



Etude expérimentale et théorique de la genèse des potentiels de champs locaux par les neurones corticaux

Jean-Marie Gomes

► To cite this version:

Jean-Marie Gomes. Etude expérimentale et théorique de la genèse des potentiels de champs locaux par les neurones corticaux. Neurosciences [q-bio.NC]. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2015. Français. NNT : 2015PA066409 . tel-01282302

HAL Id: tel-01282302

<https://theses.hal.science/tel-01282302>

Submitted on 3 Mar 2016

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Université Pierre et Marie Curie

École doctorale n° 158 : Cerveau, Cognition, Comportement

Etude expérimentale et théorique de la genèse des potentiels de champs locaux par les neurones corticaux

Thèse de doctorat de Neurosciences
présentée et soutenue publiquement le 17 septembre 2015 par

Jean-Marie GOMES

Directeur de thèse : **Thierry BAL**
Co-encadrant de thèse : **Alain DESTEXHE**

Jury

BAL Thierry,	Directeur de recherches	Directeur de thèse
CHAVANE Frédéric,	Chargé de recherches	Examineur
DELORD Bruno,	Directeur de recherches	Président du jury
DESTEXHE Alain,	Directeur de recherches	Co-directeur de thèse
HERRERAS ESPINOSA Óscar,	Directeur de recherches	Rapporteur
SALIN Paul,	Directeur de recherches	Rapporteur

Unité de Neurosciences Information et Complexité
CNRS FRE 3693, Gif-sur-Yvette, France

Remerciements

Vous qui êtes cités ici, vous avez tous contribué à rendre ces années vivantes et enrichissantes, loin des clichés sur la thèse. La fin de cette période est une des rares occasions d'exprimer mon immense gratitude. Cependant, les mots disent peu, et font encore moins ; je m'emploie donc à reproduire ces remerciements *in vivo* !

Au sein du labo, grâce soient rendues par ordre alphabétique à :

- Thierry Bal (directeur de thèse), expérimentateur invétéré et bricoleur de l'impossible, toujours disponible et prêt à se mettre en quatre pour que tournent les manip (le succès des miennes lui doit beaucoup). Il a été très agréable de travailler ensemble.
- Claude Bédard, physicien nettement au-dessus de « la moyenne des ours » (quoi qu'il en dise). Son apport à ma thèse a été essentiel : par sa compréhension très profonde de l'électromagnétisme et de l'histoire des sciences, il a su me mettre sur des pistes passionnantes et originales.
- Fernanda Catarino, partie trop tôt et dont je n'oublierai pas la grande gentillesse.
- Alain Destexhe (co-directeur de thèse), accélérateur de thèse efficace qui a su m'orienter tout en me laissant une grande liberté. Sa curiosité intellectuelle tous azimuts ne se partage jamais aussi bien qu'autour de quelques bocks de bonne bière.
- Apostolos Mikroulis, compagnon de bureau dont la discrétion cache une intelligence vive (et un humour grec à l'avenant).
- Matthew Nelson, dont l'acuité et la profondeur des critiques furent d'une grande aide pour le premier article.
- Gilles Ouanounou, qui parmi d'autres talents sait détecter les manip en détresse et rétablir la situation.
- Michelle Rudolph, one-woman-show permanent et foisonnant. Son activité cérébrale bouillonnante est toujours source de conversations animées et passionnantes ¹.
- Gérard Sadoc, Créateur de l'univers dans lequel mes manip eurent lieu. Bien plus disponible que Dieu, ses miracles furent aussi plus fréquents.
- Bartosz Teleńczuk, qui fut d'une aide inestimable par sa culture scientifique, ses connaissances en Python et son dévouement permanent à autrui.
- Silvana Valtcheva, qui m'a fourni les données concernant l'injection de courants sinusoïdaux dans des dizaines de neurones, et avec le sourire.
- Laurent Venance, qui a patché *in vivo* sans relâche jusqu'à obtenir assez de cellules et avec qui j'eus le plaisir de travailler pour la deuxième fois. Nos discussions scientifiques et musicophiles furent très fructueuses.
- Yann Zerlaut, dont j'ai eu le plaisir d'être le « co-thésard ». Entre autres coups de main, les programmes de base qu'il a codés dans ELPHY m'ont fait gagner un temps précieux en formant les fondations de mon programme d'expérimentation.
- Aurélie Daret, Justine Dionisi, Aline Ginois, Guillaume Hucher et Paul Galloux, sans qui la délicate mécanique de la thèse se serait grippée plus d'une fois.

1. Son travail sur les exposants critiques en théorie de la percolation pourrait bien la catapulter parmi les étoiles.

- Yves Frégnac et Daniel Shulz, qui défendent remarquablement le bifteck de l'UNIC dans les hautes sphères. Leur ténacité et leur clairvoyance dans ce combat ingrat méritent reconnaissance.
- Sans oublier les autres membres du labo, qu'ils soient fournisseurs en pâtisseries d'anniversaire, ardents défenseurs de la condition féminine, références en politique italienne, argentine ou autre, amateurs de trans-psychédélique, trolls, imitateurs de la Reine d'Angleterre voire même lyonnais invétérés.

De manière générale, ces quelques années d'immersion dans l'UNIC ont été formatrices d'un point de vue scientifique, mais aussi très agréables du point de vue relationnel. Ce laboratoire constitue une exception remarquable à la règle empirique selon laquelle il y a des imbéciles partout ; paradoxalement, ceci est peut-être dû au fait que ses membres viennent de partout. Je doute de retrouver ailleurs un panel de collègues tous aussi serviables, compétents et intéressants sur les plans humain et intellectuel. Ce fut une joie d'être votre collègue et disciple.

Je souhaite également remercier, dans un ordre parfaitement arbitraire :

- Mes co-thésards d'ailleurs : Alexandre, Clotilde, Laurie, Lucie, Marianne et Sylvain (il paraît qu'un matin on se réveille, et que c'est terminé), ainsi que les docteurs Catherine, Edith, Joannès, Loïc, Pierre-Louis, Sophie et Thibaut. Votre compréhension et votre humour ont fait des merveilles.
- Dorian Depriester, auteur d'un **merveilleux modèle de thèse en \LaTeX** aimablement mis à la disposition de tous.
- *L'Organization for Computational Neuroscience*, pour m'avoir permis de présenter des résultats expérimentaux à Québec. Ce fut l'occasion d'un baptême de l'air, de rencontres mémorables, et d'une demande en mariage dans la Belle Province.
- Quelques enseignants exceptionnels ayant marqué mon parcours : Christian Lipchitz, Gérard Dutruge et Gérald Peyroche.
- Le système éducatif français, qui m'a offert une formation de grande qualité, ainsi que les systèmes de bourses ayant grandement contribué à ma sécurité matérielle, et donc à la réussite de mes études.
- Les gouvernements français successifs, dont les stratégies en termes d'embauche de jeunes chercheurs et de financement de la recherche publique m'ont épargné bien des indécisions quant au choix de ma carrière.
- Rue89, le Monde Diplomatique, l'Entente Sportive de Massy - Escalade et Blizzard Entertainment pour m'avoir fourni de salutaires échappées évitant la saturation intellectuelle.
- Cooki, félin domestique dont la seule présence bénéficie à l'hygiène de vie du thésard, par son rappel constant qu'il faut songer à manger et dormir.
- Les pittoresques canards de la Mérentaise et le platane monumental jouxtant l'Allée du Parc.
- L'espèce humaine, en qui je garde quelque espoir car elle a inventé la musique.
- L'Univers, pour sa splendeur et ses mystères infinis.

Enfin, ce manuscrit est dédié à mes amis, à ma famille, et en particulier à ma merveilleuse épouse Elisa dont le soutien, la tendresse et le sourire ont été inestimables ; pour

la nouvelle vie qui s'annonce, elle saura être la tutrice d'un petit prof débutant... et je l'espère, de mini-Cazenilles ! Résumer ce que je dois à mes collègues fut difficile ; pour vous tous, cela semble impossible - d'ailleurs, le climat froid et sec d'un travail scientifique ne conviendrait pas aux mots que j'ai pour vous. Wittgenstein disait que sur ce dont on ne peut parler, il faut garder le silence. Cependant, en utilisant le grand théorème de Fermat, j'ai découvert une démonstration de gratitude véritablement merveilleuse que ce manuscrit est trop étroit pour contenir : faute de mots, il y aura des accolades, des projets réjouissants, et d'innombrables veillées ensemble autour du feu - parmi les étoiles.

Table des matières

Remerciements	i
Organisation de ce document	2
Résumé	3
Summary	4
1 Introduction	7
1.1 Origine des potentiels de champs locaux	8
1.2 Les propriétés électromagnétiques du milieu extracellulaire	20
1.3 Mesure de l'impédance extracellulaire	29
1.4 Références	39
2 Cerebral cortex is electrically equivalent to a diffusive medium	47
Résumé du chapitre	48
2.1 Abstract	49
2.2 Introduction	49
2.3 Materials and Methods	50
2.4 Results	59
2.5 Discussion	71
2.6 Références	73
3 Computing local field potentials for neurons in non-resistive media	75
Résumé du chapitre	76
3.1 Abstract	77
3.2 Introduction	77
3.3 Methods	77
3.4 Results	78
3.5 Discussion	90
3.6 Appendices	92
3.7 Références	96

4	On the relation between intracellular and extracellular potentials in cerebral cortex	99
	Résumé du chapitre	100
4.1	Abstract	101
4.2	Introduction	101
4.3	Materials and Methods	102
4.4	Results	104
4.5	Discussion	111
4.6	Références	116
5	Discussion	118
5.1	L'impédance naturelle	119
5.2	La fonction de transfert	122
5.3	Réévaluation des méthodes et conclusions traditionnelles	127
5.4	Références	135
A	Annexes	I
A.1	Analyse vectorielle	II
A.2	Ajustement de modèles non linéaires par une méthode de Monte-Carlo . . .	III
B	Liste des acronymes	XII
C	Glossaire	XIII

Liste des figures

1.1	DSP des LFP	11
1.2	Sources et puits de courants	12
1.3	Oscillations mesurées en EEG et en LFP	15
1.4	Correspondances entre activités unitaires, LFP et EEG.	17
1.5	Atténuation spatiale des diverses fréquences.	18
1.6	Conservation du courant généralisé	24
1.7	L'hétérogénéité microscopique du tissu cérébral	25
1.8	Impédance d'un milieu homogène	30
1.9	Impédance d'un milieu hétérogène.	32
1.10	Impédance de l'électrode d'argent	35
2.1	Autocorrélation du courant injecté	52
2.2	Dispositif de mesure de l'impédance naturelle et linéarité du milieu.	60
2.3	Impédance d'une électrode d'argent chloruré	62
2.4	Impédance naturelle <i>in vitro</i>	63
2.5	Comparaison entre modèles du milieu.	64
2.6	Contribution des dendrites à l'impédance naturelle.	65
2.7	Impédance naturelle <i>in vitro</i> par courants sinusoïdaux.	66
2.8	Impédance naturelle <i>in vivo</i>	67
2.9	Impédance mesurée par la technique à quatre électrodes.	68
2.10	Conséquences de la nature diffusive du milieu.	70
3.1	Extracellular impedance measured <i>in vitro</i>	82
3.2	Courants synaptiques utilisés dans le modèle de LFP.	84
3.3	LFP dus aux courants somatiques transmembranaires	85
3.4	LFP dus aux courants dendritiques transmembranaires	86
3.5	Fluctuations de voltage transmembranaires dans le soma	87
3.6	LFP total généré suite à l'activité synaptique, par différents compartiments	88

3.7 LFP total généré par l'activité synaptique, dans différents milieux	89
3.6.1 Coordonnées et variables sur l'arbre dendritique et dans le milieu	92
4.3.1 Grandeurs enregistrées et opérations réalisées à partir d'elles.	103
4.4.1 Dispositif expérimental : modèle et signaux.	105
4.4.2 Fonction de transfert de cellules corticales, <i>in vitro</i>	106
4.4.3 Prédiction des LFP d'après le potentiel intracellulaire.	108
4.4.4 Reconstruction du courant membranaire à l'aide du potentiel intracellulaire.	109
4.4.5 Reconstruction des courants membranaires à l'aide des LFP	110
4.5.1 Expérience testant la présence d'un court-circuit.	114
4.5.2 Distorsion de la fonction de transfert par le système de mesure.	115
5.3.1 Rapport des modules	133
A.2.1 Ajustement par méthode de Monte-Carlo	IX

Liste des tableaux

1.1	Caractéristiques électriques du milieu extracellulaire	24
1.2	Caractéristiques électriques macroscopiques du milieu extracellulaire . . .	26
2.1	Parameters used for the four models.	56
2.2	Intermediate variables.	57
3.1	Pentes de la DSP des LFP générés dans différents milieux	84
4.1	Expressions de la fonction de transfert.	107

Organisation de ce document

Ce document est composé d'un préambule, de cinq chapitres et d'annexes.

Le préambule comporte les résumés de la thèse (en français et en anglais) ainsi que les sommaires et informations d'usage.

Les chapitres incluent une introduction générale, trois articles scientifiques en anglais et chacun précédé d'un article en français, et une discussion générale. *Remarque : le deuxième article présente un travail encore en préparation.*

Deux annexes concluent le document : la première est écrite à l'intention du lecteur peu familier avec les notations opératoriels, très utiles en électromagnétisme. La seconde a pour objectif de publier un algorithme d'ajustement (ou *fit*) simple et multi-usage, en complément d'algorithmes classiquement utilisés.

Résumé

Les potentiels de champs locaux (LFP) sont des événements de fréquence inférieure à 200-500 Hz, résultant de l'activité cérébrale. Leur signification et les mécanismes contribuant à leur formation sont encore très débattus. Ainsi, l'existence et l'importance d'un filtrage des courants ioniques par le tissu cérébral est controversée. Certains auteurs concluent que le milieu est résistif, alors que d'autres suggèrent que le tissu cérébral pourrait exercer un filtrage passe-bas significatif sur les courants électriques.

Une méthode de mesure nouvelle est présentée ici, s'appuyant sur le concept d'*impédance naturelle*, mesurée en utilisant un neurone comme « électrode ». Ceci permet d'obtenir l'impédance la plus pertinente d'un point de vue physiologique, en termes d'interface électrode-milieu, d'intensité des courants et d'échelle spatiale. L'impédance mesurée est stable, reproductible, plus forte que celle mesurée traditionnellement, et possède une dépendance en fréquence en $1/\sqrt{f}$. Un modèle physique prenant en compte la diffusion ionique dans le milieu est capable de reproduire cette impédance.

Une méthode similaire permet de calculer la fonction de transfert entre les potentiels intra- et extracellulaire d'un neurone. Des modèles sont proposés pour expliquer sa forme, prédire les LFP d'après l'activité cellulaire et vice-versa.

Ces résultats pourraient aider à l'interprétation des signaux de LFP et d'électroencéphalographie, permettant une compréhension plus profonde du fonctionnement cérébral physiologique et pathologique.

(1620 signes)

Summary

Local field potentials (LFPs) are low-frequency ($< 200\text{-}500$ Hz) events resulting from brain activity. Their meaning and the mechanisms shaping them have been highly debated for decades. The existence and importance of a frequency-dependant filtering of ionic currents by brain tissue is controversial. Some authors conclude that the medium is resistive, while others suggest that brain tissue may exert significative low-pass filtering on electrical currents.

A new measurement method is presented here, relying on the concept of *natural impedance*, which is measured using a neuron as an “electrode”. This allows to obtain the most relevant impedance from a physiological point of view, in terms of electrode-medium interface, current intensity and spatial scale. The measured impedance is stable, reproducible, stronger than what is traditionally measured, and has a $1/\sqrt{f}$ frequency dependence. A physical model, taking into account ionic diffusion in the medium, is able to reproduce this impedance.

A similar method allows to compute the transfer function between the intra- and extracellular potentials of a neuron. Models are proposed to explain its structure, predict LFPs from cell activity and vice-versa.

These results may help interpreting LFP and electroencephalography signals, yielding a deeper understanding of the physiological and pathological brain function.

(1387 signs)

Mots-clés

- Potentiels de champs locaux (LFP)
- Cortex cérébral
- Milieu extracellulaire
- Impédance naturelle
- Fonction de transfert
- Diffusion ionique

Keywords

- Local field potentials (LFP)
- Cerebral cortex
- Extracellular medium
- Natural impedance
- Transfer function
- Ionic diffusion

Laboratoire

Unité de Neurosciences Information et Complexité (UNIC)

CNRS FRE-3693
1 Avenue de la Terrasse
91198 Gif-sur-Yvette
France

Directeur : Yves Frégnac

Encadrement

La supervision des expériences *in vitro* a été assurée par T. Bal ; A. Destexhe a guidé les développements théoriques. Ces deux encadrants ont notamment contribué à la rédaction et à la correction des articles.

Bien que non officiellement encadrant, C. Bédard a fourni un soutien majeur, par son implication et son expertise en électromagnétisme du milieu cérébral.

Chapitre 1

Introduction

*« There is no spoon. It is not the spoon
that bends, it is only yourself. »*

The Matrix - Andy et Larry Wachowski

Sommaire

1.1 Origine des potentiels de champs locaux	8
1.1.1 L'activité électrique cérébrale	8
1.1.2 La mesure des LFP	8
1.1.3 Etat des connaissances sur la genèse des LFP	11
1.2 Les propriétés électromagnétiques du milieu extracellulaire	20
1.2.1 D'une représentation microscopique...	20
1.2.2 ... à un formalisme macroscopique	25
1.3 Mesure de l'impédance extracellulaire	29
1.3.1 Etat actuel des connaissances	29
1.3.2 Système de mesure basé sur le concept d'impédance naturelle	33
1.3.3 L'impédance naturelle, outil d'investigation des LFP	37
1.4 Références	39

1.1 Origine des potentiels de champs locaux

1.1.1 L'activité électrique cérébrale

Après les découvertes de Luigi Galvani établissant le rôle des nerfs dans la conduction de l'« électricité animale » et le déclenchement de la contraction musculaire, la convergence de la physiologie et de l'électromagnétisme donna naissance à l'électrophysiologie. Cette nouvelle science étendit très rapidement l'étude du comportement électrique des nerfs à leur principal centre de convergence anatomique : le cerveau, centre de « sécrétion de l'électricité animale » pour GALVANI et ALDINI [40]. Concurrément, les progrès théoriques et techniques en électromagnétisme ont permis la construction de galvanomètres de plus en plus élaborés pour l'électrophysiologie. Ainsi, Richard Caton put mettre en évidence des courants électriques spontanés dans le cortex de mammifères dès 1875, et annoncer dans la foulée que ces « courants de la matière grise semblent être liés à sa fonction » [23]. Il montra que lorsque les zones corticales « sont dans un état d'activité fonctionnelle, leurs courants exhibent usuellement des variations négatives », que ces zones soient motrices (rotation de la tête, mastication) ou sensorielles (stimulation de la rétine par la lumière).

La mise au point de l'**électroencéphalographie (EEG)** dans les années 1920 [16] a ouvert des possibilités d'investigation non invasive de ce phénomène électrique. S'il fut rapidement clair que les « vagues de potentiel générées par le cortex [étaient] dues à l'activité des neurones corticaux » [2], les « ondes alpha [étant] l'expression de fluctuation de potentiels non propagés » [20], l'interprétation des signaux d'EEG demeure problématique près d'un siècle plus tard. En effet, il est difficile de les relier de manière univoque et précise à une activité intra-crânienne : les signaux sont le résultat, déformé par la traversée de divers tissus, de l'activité de plusieurs centaines de millions de neurones [21, 77].

On sait aujourd'hui que les courants enregistrés par Caton proviennent des courants ioniques transmembranaires constituant l'activité des neurones, formant des « sources » et des « puits » de courant dans le milieu extracellulaire qui correspondent à des changements dans le potentiel électrique environnant. Depuis le développement des micro-électrodes dans les années 1950, notamment par Vernon Mountcastle [54], il est possible d'enregistrer ces variations de potentiel ; on appelle **potentiels de champ locaux –ou Local Field Potentials– (LFP)**, le potentiel électrique mesuré par une micro-électrode dans le milieu extracellulaire. Cette mesure locale, à l'échelle de la centaine de micromètres, est indispensable pour comprendre l'articulation entre les courants ioniques, phénomène fondamental et microscopique, et l'EEG signal intégré et macroscopique.

1.1.2 La mesure des LFP

Concepts physiques élémentaires permettant la mesure

Les définitions ci-dessous sont volontairement simplifiées, afin d'éviter au lecteur une surcharge de détails techniques qui seront introduits progressivement dans le texte au

fur et à mesure de leur utilité. Afin de quantifier les courants et potentiels cérébraux, on appelle :

- \vec{j} , le vecteur densité de courant en ampères par mètre carré, représentant la quantité de charges déplacée par unité de temps à travers une surface unité.
- σ , la conductivité du milieu considéré en siemens par mètre, reflet de la facilité du milieu à permettre le flux des charges électriques.
- V , le potentiel électrique en un point donné par rapport à une référence, en volts. Ce scalaire représente l'énergie potentielle électrostatique d'une charge électrique placée en ce point, par rapport à un point d'énergie potentielle nulle (la référence).
- \vec{E} , le champ électrique en un point donné de l'espace. Soit une charge statique q_0 en $(0, 0, 0)$; on veut évaluer la force $F_{0/1}$ exercée par q_0 sur une « charge d'épreuve » q_1 que l'on amène au point (r, θ, ϕ) , repéré en coordonnées sphériques. Dans le vide, la loi de Coulomb donne $\vec{F}_{0/1} = \frac{q_0 q_1}{4\pi\epsilon_0 r^2} \vec{u}_r$, où ϵ_0 est la permittivité diélectrique du vide et \vec{u}_r représente le vecteur unitaire orienté de q_0 vers q_1 . Pour obtenir une évaluation de l'effet de q_0 indépendante de la valeur de la charge d'épreuve, on divise la force mesurée en tout point de l'espace par q_1 . On obtient le champ électrique généré par q_0 , le champ de vecteurs défini comme $\vec{E}(r) = \frac{q_0}{4\pi\epsilon_0 r^2} \vec{u}_r$. Expérimentalement, l'intensité de ce champ est définie comme une différence de potentiel par unité de distance, en volts par mètre. On appelle "lignes de champ" la trajectoire que décrirait une charge positive seulement soumise à ce champ électrique. Dans le cas de charges multiples, les champs électriques s'additionnent linéairement.

Ces grandeurs sont reliées, *en première approximation*, par des relations fondamentales :

\vec{E} est l'opposé du gradient du potentiel électrique : $\vec{E} = -\vec{\nabla}V$. Le champ électrique est un vecteur dont l'amplitude indique le taux de variation maximal du potentiel et dont la direction est celle de ce taux maximal [77].

La loi d'Ohm microscopique, selon laquelle le courant est proportionnel au champ électrique : $\vec{j} = \sigma \vec{E}$.

Parfois, il est utile voire nécessaire d'exprimer ces grandeurs dans l'espace des fréquences. Une grandeur $A(t)$ est alors considérée à travers sa transformée de Fourier, $A(\omega)$:

$$A(\omega) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{+\infty} e^{-i\omega t} A(t) dt$$

où ω (parfois appelée fréquence par abus de langage) est une pulsation en radian par seconde, définie à partir de la fréquence f par $\omega = 2\pi f$.

Comment mesure-t-on ? Traditionnellement, les LFP sont mesurés par implantation d'une ou plusieurs électrodes de métal d'un diamètre de l'ordre de 100 μm dans le tissu cérébral. Les électrodes, qui peuvent être en tungstène, platine-iridié ou autre [64], sont électriquement isolées par un vernis sauf à leur pointe. Une autre possibilité est d'utiliser une pipette de verre remplie de **liquide céphalo-rachidien artificiel –ou Artificial Cerebro-Spinal Fluid– (ACSF)** ; le verre étant plus rigide que le métal, l'électrode sera plus fine. De plus, cette méthode permet d'éviter la polarisation des électrodes qui survient à basse fréquence [63].

Dans la configuration la plus simple, l'électrode de mesure est reliée électriquement à un voltmètre, qui compare son potentiel V_{LFP} au potentiel d'une référence V_{ref} . Lors du choix d'une référence, il faut s'assurer que son potentiel est aussi stable que possible, et non influencé par les variations de potentiel ayant lieu au niveau de l'électrode de mesure. *In vitro*, on choisira donc un point dans le ACSF éloigné de la tranche pour disposer une référence en argent chloruré, dont le potentiel peut être très stable grâce à sa grande capacité à échanger des ions avec l'ACSF par oxydo-réduction. *In vivo*, on fixe souvent la référence en-dehors du crâne, en contact avec un muscle de l'épaule afin de fermer le circuit électrique.

L'électrode de mesure est strictement passive, c'est-à-dire qu'elle n'injecte ni ne prélève aucun courant dans le tissu, afin d'interférer aussi peu que possible avec sa physiologie.

Que mesure-t-on ? Ce qui est mesuré est donc une différence de potentiel entre une référence stable et V_{LFP} , moyenne mésoscopique sur la surface de la pointe de l'électrode, représentant un volume d'une centaine de micromètres d'arête [77].

Limites et composition en fréquence des LFP Afin de déterminer l'importance relative des bandes de fréquence des LFP, on étudie leur **densité spectrale de puissance –ou Power Spectrum Density (DSP)**. Pour un signal réel, mesuré sur un intervalle de temps T , cette grandeur est définie dans le domaine des fréquences comme suit :

$$DSP_{LFP}(\omega) = \frac{1}{T} |V_{LFP}(\omega)|^2$$

La DSP des LFP est grossièrement décrite par une loi de puissance en $1/f^\gamma$. γ est visualisée comme la pente de la DSP en coordonnées logarithmiques :

$$DSP_{LFP}(\omega) \propto \frac{1}{\omega^\gamma}$$

où le symbole \propto représente une relation de proportionnalité. On observe que les basses fréquences (< 100 Hz) sont surreprésentées dans les enregistrements extracellulaires par rapport aux hautes fréquences. Si l'origine de cette structure est encore largement méconnue [5, 10, 86], elle est en partie définie et toujours affectée par la présence de résonances, de rythmes, et la dépendance en fréquence des propriétés du milieu extracellulaire (voir 1.1.3). L'exposant γ varie entre 1 et 4 selon les structures, techniques d'enregistrement, et l'état du cerveau (éveillé, en sommeil, actif...) ; on peut même observer différents exposants selon la bande de fréquence des LFP (voir un exemple en figure 1.1).

On définit donc le LFP à proprement parler comme la composante de basse fréquence du potentiel enregistré - entre 0 et 100 à 500 Hz [11, 62, 64]. Cette restriction s'explique par les constantes de temps associées aux événements donnant lieu aux principales composantes des LFP (voir 1.1.3), les hautes fréquences étant dominées par les potentiels d'action [26, 69, 74].

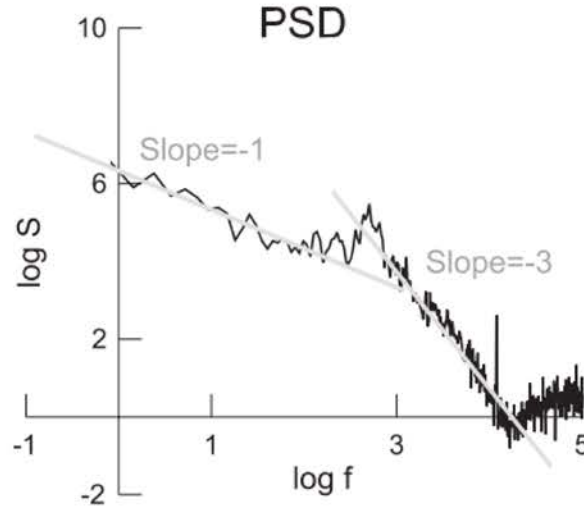


FIGURE 1.1 – Densité spectrale de puissance d'un LFP enregistré dans le cortex pariétal d'un chat éveillé, en fonction de la fréquence. Echelle logarithmique (log naturel). On observe deux lois de puissances différentes de part et d'autre de 18 Hz : $\gamma = -1$ et $\gamma = -3$. (D'après BÉDARD et collab. [10])

1.1.3 Etat des connaissances sur la genèse des LFP

Phénomènes cellulaires donnant lieu aux LFP

Lorsqu'un courant ionique passe à travers une membrane plasmique (par exemple une entrée de charges positives), il se forme un *puits de courant* dans le milieu extracellulaire là où ces charges sont ôtées, alors qu'il y a un surplus de charges positives intracellulaires. En vertu de la loi d'Ohm, cette perturbation dans la répartition des charges électriques due à un courant modifie le champ électrique, et donc le potentiel local. Spontanément, cette énergie potentielle est dissipée par l'apparition de *sources de courant* (par exemple, la sortie du surplus de charges positives intracellulaires) générant des *courants de retour* venant combler le puits, rétablissant l'électroneutralité locale. Ainsi, selon la position spatiale des électrodes enregistrant le LFP, des variations de potentiel différentes peuvent être enregistrées, ce qui est illustré en figure 1.2. Ces perturbations du champ électriques étant sommatives, le LFP est la résultante de tous les courants environnants.

Tout courant transmembranaire (fluctuations ou oscillations subliminaires du potentiel membranaire, potentiels d'action...) est susceptible de modifier le potentiel électrique local. Cependant, en solution, les charges libérées par un événement unitaire attirent des ions de charge opposée qui tendent à neutraliser leur effet à distance. Ce phénomène est appelé « blindage des charges » ; grâce à la physique statistique, on trouve que le potentiel dû à une charge q est de la forme :

$$V(r) = \frac{q}{kr} e^{-r/r_d}$$

où r_d est la distance de blindage de Debye. r_d étant estimée à environ 0.3 nm, un événement localisé déplaçant peu de charges a un effet très peu étendu dans l'espace du fait de cette atténuation exponentielle. Ces modifications très faibles ne sont mesurables à distance que si leur amplitude est importante à l'échelle de la cellule, et que leur sommation spatio-temporelle est possible.

Droits d'auteur non acquis

FIGURE 1.2 – Sources et puits de courants. Les potentiels intra- et extracellulaires ont été enregistrés près d'une jonction neuromusculaire de grenouille, suite à l'activation du nerf moteur. Les LFP ont été enregistrés à différentes distances de la jonction neuromusculaire, le long des fibres musculaires. **A-D** : enregistrements pris à 0, 80, 230, 500 μm de la jonction. L'axe des potentiels est orienté vers le bas (positif en bas). **A** : la décharge présynaptique évoque un courant synaptique, qui est enregistré à cet endroit comme un fort potentiel négatif. Au fur et à mesure que l'électrode est éloignée de la synapse (**B, C, D**), le potentiel généré devient plus faible et s'inverse même à 500 μm (à cet endroit, la fibre musculaire se comporte comme une source de courant). La latence du potentiel d'action augmente le long des sites. [47].

Conditions et conséquences de la sommation des LFP

Après la découverte des oscillations de l'EEG par Berger, [20] a observé que les potentiels d'action étaient trop rapides pour expliquer les oscillations lentes des EEG, dont la source devait être autre. Il a alors avancé une théorie selon laquelle les rythmes provenaient des propriétés intrinsèques des neurones, les EEG reflétant les oscillations synchronisées de nombreux neurones corticaux (pour un historique détaillé, voir DESTEXHE et SEJNOWSKI [28]). Faisant la synthèse de nombreuses observations, Eccles a formulé l'hypothèse selon laquelle l'EEG proviendrait de potentiels synaptiques des neurones corticaux produits par des afférences excitatrices synchronisées [30], basée à l'époque sur trois constats principaux : 1) « les ondes de l'EEG ont approximativement les mêmes constantes de temps que celles des fluctuations de potentiel élémentaires » [associées aux décharges de courant synaptiques] et 2) « leur forme sinusoïdale résulte d'une oscillation régulière d'une activité neuronale de même signe électrique entre des groupes cellulaires distincts » [20, 51]. Une assemblée de neurones synchronisés par une afférence commune, possédant chacun jusqu'à dix mille synapses, représentent un grand nombre de compartiments actifs simultanément et possèdent donc les caractéristiques d'éventuels responsables des LFP ; 3) des événements « lents » sont plus susceptibles de se chevaucher dans le temps que des événements rapides : « La sommation des pulsations individuelles serait facilitée par leur durée relativement longue (≥ 10 ms), durée environ dix fois plus grande que celle des potentiels d'action axoniques » [20].

Cette hypothèse est aujourd'hui largement vérifiée, acceptée et étendue aux LFP [32, 60, 77], la contribution aux LFP des courants somatiques et gliaux étant souvent regardée comme mineure [22]. On présente ici une rapide vue d'ensemble des divers phénomènes influant sur la formation, l'amplitude et la propagation des LFP.

Les facteurs géométriques et spatiaux impliqués :

La morphologie de la cellule. Les cellules pyramidales étudiées ici possèdent de volumineuses dendrites apicales. La longueur et l'asymétrie de cette structure favorisent sa polarisation, et donc la formation de dipôles. La source et le puits de courant peuvent être bien séparés (champ ouvert ou « *open field* », voir HUBBARD et collab. [47], LLINAS et NICHOLSON [63], LORENTE DE NÓ [76]), donnant lieu à un important champ électrique. À l'inverse, des cellules dont le corps cellulaire et l'arborescence sont plus sphérique sont moins susceptibles, par leur symétrie même, de former des dipôles d'ampleur comparable.

L'arrangement local des sources de courant. Des cellules de grande taille, groupées densément et pourvues de nombreuses synapses peuvent générer de forts LFP. L'arrangement des dipôles peut être également critique, et une organisation quasi-cristalline des neurones ne suffit pas à garantir un LFP important. Par exemple, dans l'hippocampe de Souris, les cellules pyramidales sont alignées et parallèles (arrangement en bataille) ; de plus, les synapses excitatrices génèrent la plupart du temps des puits de courant au niveau des dendrites du neurone post-synaptique, alors que les synapses inhibitrices génèrent des sources de courant proches de son soma. Ceci permet la formation et la sommation constructive de nombreux dipôles. Ces mêmes cellules pyramidales sont décalées les unes par rapport aux autres chez l'Homme (arrangement en épi) ; les dipôles, tête-bêche,

tendent alors à s'annuler deux à deux [4, 22]. Une autre possibilité est la juxtaposition de cellules dont les arbres dendritiques sont distribués radialement, sans préférence d'orientation ; les courants extracellulaires évoqués, fusant dans toutes les directions, s'annulent rapidement les uns les autres [76]. Le nombre de sources contribuant au LFP en un point donné peut donc varier aussi largement que de 1 à 10^5 [1].

Les propriétés électriques du milieu extracellulaire , principaux objets de cette étude. En électrodynamique des milieux continus, deux grandeurs permettent de caractériser entièrement le comportement d'un milieu linéaire : la conductivité σ et la permittivité ϵ .

1. σ représente la facilité des ions à circuler dans un champ électrique donné.
2. Lorsqu'un champ électrique est appliqué dans un matériau qui n'est pas un conducteur parfait, ce matériau subit une polarisation s'opposant à ce champ électrique. ϵ est une mesure de ce phénomène (voir 1.2.1).

Pour une première exploration de ces paramètres, on imagine une source ponctuelle (monopôle), délivrant un courant stationnaire I dans un milieu homogène, isotrope et purement résistif, on a $\vec{j} = \sigma \vec{E}$. En régime stationnaire, il n'y a pas d'accumulation de courant dans un milieu homogène ; d'après la loi de Kirchhoff, le flux de charges est le même au niveau de la source que sur toute sphère de rayon r centrée sur la source. Ainsi, la densité de courant décroît comme $1/(4\pi r^2)$ lorsqu'on s'éloigne de la source sur l'axe \vec{u}_r : $\vec{j}(r) = \frac{1}{4\pi r^2} \vec{u}_r$. La loi d'Ohm donne $\vec{j}(r) = \frac{1}{4\pi r^2} \vec{u}_r = -\sigma \vec{\nabla} V(r) \vec{u}_r = -\sigma \frac{\partial V}{\partial r} \vec{u}_r$. En intégrant, on trouve : $V(r) = \frac{1}{4\pi\sigma r}$

On voit que dans ce cas simple, plus le milieu est conducteur (σ forte) et plus les dipôles se dissiperont facilement, donnant lieu à de faibles champs électriques ; à l'inverse un milieu isolant permet la formation durable de forts champs électriques, selon le principe du condensateur. De même, dans un milieu très **diélectrique** (ϵ fort), il est aisé de séparer des charges, correspondant a priori à des LFP perceptibles à longue distance.

La disposition des sources. L'atténuation spatiale d'un monopôle, comme on vient de le voir, est en $1/r$. Lorsqu'on mesure à distance le potentiel généré par la séparation de deux charges $+q$ et $-q$ (dipôle), le principe de superposition associé à la loi de Coulomb donne : $V_r = \frac{q}{4\pi\epsilon} \left(\frac{1}{d_1} - \frac{1}{d_2} \right)$, où les d_i représentent la distance entre chaque élément du dipôle et le point de mesure et ϵ est la permittivité électrique du milieu considéré. Si les d_i sont suffisamment grands devant la distance de séparation des charges, un développement limité donne $V_r \propto \frac{q}{4\pi\epsilon r^2}$, conduisant à une atténuation spatiale bien plus rapide que celle d'un monopôle. Selon l'arrangement local des sources et des puits de courant et leur distance au point de mesure, la portée spatiale observée du champ électrique associé à des courants est donc variable.

Le filtrage des courants. la propagation des courants de retour le long des processus neuronaux obéit aux équations de câble décrites par une littérature abondante (pour une revue, voir RALL [89] et JOHNSTON et collab. [52]). Ces courants peuvent subir un *filtrage dendritique* diminuant l'amplitude de leurs hautes fréquences [61], modifiant ainsi la composition fréquentielle des LFP ; cependant, l'importance relative de ce filtrage dendritique a été évaluée comme faible par GOLD et collab. [44] et BÉDARD et collab. [13]. L'importance de ce filtrage sera évaluée ici dans le développement principal.

Facteurs influant la sommation temporelle : La sommation de nombreux événements synchronisés dans une même région est une condition majeure de la production de LFP puissants. Les premiers enregistrements d'un champ électrique cortical réalisés par BERGER [16] étaient d'ailleurs des EEG montrant l'alternance de rythmes alpha et bêta. Lorsqu'on demandait à un sujet de fermer les yeux et de se détendre, d'amples oscillations d'environ 8-13 Hz étaient enregistrées : les rythmes alpha. En revanche, un sujet concentré sur une tâche ou auquel on présente un stimulus présentait un rythme bêta : des oscillations de plus faible amplitude comprises entre 12 et 30 Hz. Ces rythmes, et d'autres encore, se retrouvent chez de nombreux Métazoaires, du Dytique à l'Homme (voir fig. 1.3).

Droits d'auteur non acquis

FIGURE 1.3 – Oscillations mesurées en EEG et en LFP. **A** : EEG de ganglion optique de Dytique (« *water beetle* », haut) et de cortex humain (cortex de l'auteur, bas). *Dark, Light, Shut, Open* : obscurité, lumière, fermeture et ouverture des yeux respectivement [2]. **B** : LFP dans le cortex sensorimoteur chez un Primate éveillé et actif. Cinq LFP ont été enregistrés simultanément à deux millimètres d'intervalle. Echelle verticale : l'amplitude maximale des tracés varie entre 25 et 100 μ V. Echelle horizontale : les échantillons présentés durent 3 secondes [33].

Depuis, de nombreuses expériences ont montré l'existence d'une forte corrélation entre EEG, LFP et activité unitaire [24, 56, 68, 99, 108], dont quelques exemples sont exposés en figure 1.4. La synchronisation des activités unitaires est donc visible aux échelles supérieures. Toutefois, cette synchronisation est variable, et notoirement plus faible dans les états d'éveil [16, 27, 101].

Il existe de nombreuses propriétés du cerveau favorisant la synchronisation des signaux :

La connectivité du réseau. Un seul neurone peut avoir jusqu'à 200 000 synapses, comme les cellules cérébelleuses de Purkinje [97]. L'activité d'un unique neurone permet l'activation simultanée de ces compartiments pré-synaptiques, qui génèrent un fort LFP et de surcroît synchronisent un grand nombre de neurones post-synaptiques. De plus, des connectivités récurrentes (cycliques) peuvent entretenir l'activité rythmique dans un réseau.

Les résonances membranaires. On peut considérer les membranes des neurones comme un système dont la tension (différence de potentiel) oscille selon plusieurs fréquences. Lorsqu'on stimule ce système, certaines fréquences suscitent une réponse plus forte que d'autres : il y a *résonance*. Dans certains cas, la résonance peut amplifier une

stimulation périodique faible, comme dans le cas des soldats marchant au pas sur le pont de la Basse-Chaîne et provoquant son effondrement ; dans d'autres, elle peut provoquer un phénomène de synchronisation similaire à la « sympathie des pendules » découverte par Christian Huygens [15]. Les résonances peuvent ainsi modifier la synchronisation des activités et la composition en fréquence des LFP.

Deux principaux mécanismes pourraient sous-tendre la résonance dans les neurones individuels :

1. la présence de canaux voltage-dépendants dans la membrane plasmique permet la formation de résonances, que le potentiel soit infraliminaire ou non [48, 83, 98]. Il est aisé de le tester pharmacologiquement, par exemple pour les canaux I_T [58]. Ces résonances sont relativement bien comprises sur le plan théorique : Izhikevich en a développé un modèle simple en régime infraliminaire [50], montrant que la non-linéarité des canaux ioniques suffit à susciter des résonances. D'après TCHUMATCHENKO et CLOPATH [103], un réseau de neurones de type « intègre et tire avec adaptation » peut produire des oscillations gamma.
2. Des résonances entre 5 et 40 Hz ont été prédites si le milieu extracellulaire est diffusif ; ceci pourrait contribuer à la formation des oscillations alpha, bêta ou gamma [9, 13].

La connectivité entre neurones peut être également un facteur favorisant les résonances : par exemple, une stimulation dans le thalamus ou le cortex autour de 10 Hz entraîne des réponses croissantes ; ce phénomène est appelé « réponse croissante » (ou « *augmenting response* », MORISON et DEMPSEY [70]).

Des correspondances entre bandes de fréquence. Même des événements rapides, peu susceptibles d'être simultanés, peuvent entraîner des événements lents synchronisables. Un exemple est l'après-hyperpolarisation qui suit un potentiel d'action [31].

Un mode d'oscillation particulier, baptisé « *up and down states* », a été décrit dans le striatum puis dans le cortex [100, 109]. Lors de ces oscillations lentes (< 1 Hz), des périodes de dépolarisation présentant de nombreuses décharges et un barrage synaptique continu, alternent avec des périodes d'hyperpolarisation durant lesquelles les cellules sont silencieuses. Ce mécanisme, faisant intervenir les propriétés de canaux potassiques voltage-dépendants, permettrait de coordonner d'autres oscillations associées au sommeil dans le thalamus et le cortex [93] ; l'intense activité synaptique qu'il suscite et les bandes de fréquences qu'il touche (moins de 1 Hz à plus de 1000) illustre la richesse fonctionnelle et la diversité des mécanismes associés aux rythmes corticaux contribuant aux LFP [5].

Origine de la structure spectrale des LFP

On a vu précédemment que les basses fréquences sont surreprésentées dans les enregistrements extracellulaires. On observe que les potentiels d'action ne participent pas aux EEG ; les hautes fréquences produites par les potentiels d'action ne sont observables qu'à quelques dizaines de micromètres de distance de la source [11, 44] ; en revanche, les événements de basse fréquence sont visibles jusqu'à plusieurs millimètres [27, 55], comme l'illustre la figure 1.5. Plusieurs mécanismes peuvent contribuer à cet état de fait :

Droits d'auteur non acquis

FIGURE 1.4 – Correspondances entre activités unitaires, LFP et EEG. **A** : Enregistrement intracellulaire d'une cellule du cortex visuel à dépolarisation lente, et sa réaction à la stimulation électrique du tractus optique homolatéral (bas). Potentiels évoqués en EEG (haut) [108] **B** : Enregistrements extracellulaire (haut) et intracellulaire (bas) d'une cellule pyramidale de la couche V subissant des « *up and down states* » [68]. **C** : Enregistrements spontanés d'électrodes de LFP (six traces, en haut) et d'EEG (deux sites, en bas), chez un patient épileptique. [22] **D** : Enregistrements simultanés d'ondes rapides (15-50 Hz) dans un neurone cortical. De haut en bas : EEG en surface et en profondeur, potentiel extracellulaire filtré en passe-haut et passe-bas, potentiel intracellulaire [99].

- un haut degré de synchronisation dans les basses fréquences, dû à des propriétés électriques passives, de connectivité entre neurones (voir ci-avant)
- les propriétés de câble des neurones et de leurs processus, en particulier le filtrage dendritique (idem).
- une activité individuelle des neurones plus puissante dans les basses fréquences.
- la dépendance en fréquence des propriétés électriques du milieu peut sensiblement modifier l'intensité relative des bandes de fréquence composant les LFP. Avec $\vec{j}(\omega) = \sigma(\omega)\vec{E}(\omega)$, si la densité de courant de la source est la même pour toutes les fréquences, une conductivité (par exemple) en $1/\omega$ filtre les composantes de haute fréquence du champ électrique produit. BÉDARD et collab. [11] montrent que les événements de fréquence supérieure à 100 Hz auraient peu de conséquences sur la distribution de charges, du fait du rapport σ/ϵ des membranes plasmiques.

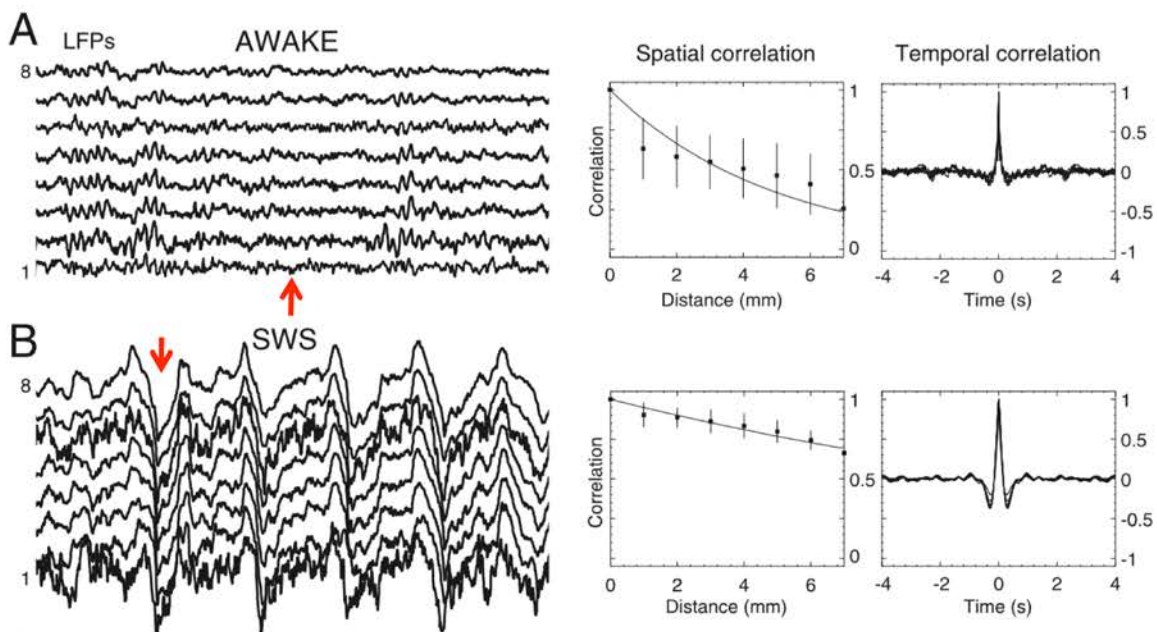


FIGURE 1.5 – Atténuation spatiale des ondes lentes et rapides. Huit électrodes bipolaires distantes d'1 mm ont enregistré le potentiel électrique à 1mm de profondeur dans le néocortex d'un chat, par rapport à une référence lointaine. À gauche : les LFP enregistrés. Au centre : degré de corrélation spatiale des LFP (moyenne \pm écart-type). À droite : superposition des corrélations temporelles entre les potentiels de chaque couple d'électrodes. Etats d'éveil de l'animal : A, éveillé (« awake ») ; B, animal en sommeil à ondes lentes (« SWS, *Slow Wave Sleep* »). Les flèches rouges pointent vers des corrélations spatiales faibles dans les hautes fréquences (haut, oscillations rapides non synchronisées entre électrodes) et fortes dans les basses fréquences (bas, larges oscillations bien synchronisées). D'après HUTT [49].

Signification fonctionnelle des LFP.

Très tôt, il fut postulé que « l'activité électrique corticale n'est pas tant une activité aléatoire d'unités indépendante qu'une série de perturbations s'étendant sur de grandes aires » [2]. Cette interprétation s'appuyait principalement sur l'observation suivante : « Si les ondes lentes résultent d'effets de sommation elles devraient être présentes lorsque les électrodes [de mesure et de référence] sont largement séparées, mais absentes ou très

faibles lorsqu'elles sont proches. On observe que ces ondes sont seulement présentes lorsque les électrodes sont séparées par de grandes aires [corticales] ».

Si les LFP semblent refléter une réelle synchronisation d'activités locales, une triple problématique se pose.

Le rôle direct des LFP dans l'activité neuronale est encore largement méconnu. Toutefois, il a été montré que de faibles champs électriques ($< 5 \text{ mV mm}^{-1}$) peuvent affecter la fonction cérébrale [34, 36, 43]. De plus, des champs de l'ordre de grandeur des LFP ($0,1\text{--}1 \text{ mV mm}^{-1}$) semblent pouvoir suffisamment avancer ou reculer la survenue de potentiels d'action pour être significatifs en termes de codage temporel [87]. Toutefois, la quantification de l'importance de ces couplages à distance entre neurones via leur champ électrique, dits « couplages ephaptiques », est encore un problème ouvert.

L'interprétation des LFP est toujours difficile. On serait en droit de se demander *a priori* si ces signaux ne sont pas de simples épiphénomènes pauvres en information. De nombreux travaux (entre autres : HENRIE et SHAPLEY [45], PESARAN et collab. [80], SCHERBERGER et collab. [94], WOMELSDORF et collab. [110]) réfutent cette hypothèse, en montrant que les LFP sont une très bonne mesure des processus conduisant au comportement. D'après KATZNER et collab. [55], la carte de sélectivité à l'orientation du cortex visuel primaire est très similaire pour les unités isolées et les LFP. Autrement dit, connaissant la réaction préférentielle des unités isolées à un stimulus visuel orienté, il est possible de prédire la sélectivité à l'orientation de ces LFP, qui sont donc porteuses d'une information riche ; cette conclusion est corroborée par BELITSKI et collab. [14], qui ont montré dans la même aire visuelle que l'information portée par les basses fréquences des LFP était indépendante du message encodé par les potentiels d'action.

La localité des LFP. L'étude de KATZNER et collab. [55] a permis d'estimer que plus de 95% du signal enregistré en LFP provient d'une activité située à moins de $250 \mu\text{m}$ de l'électrode, suggérant que l'observation de corrélations spatiales plus larges impliquerait une relation anatomique et fonctionnelle entre les assemblées enregistrées [79]. Cette estimation, corrélée par XING et collab. [111] et LINDÉN et collab. [62], est toutefois à prendre avec prudence alors que WANG et collab. [105], KAJIKAWA et SCHROEDER [53] ou encore NAUHAUS et collab. [71] évoquent des distances de propagation caractéristiques de plusieurs millimètres pour les LFP.

Les LFP sont donc une superposition spatio-temporelle macroscopique de nombreuses activités microscopiques. Les phénomènes qui façonnent leur dynamique spatiale et temporelle (ou fréquentielle) sont nombreux et souvent mal connus, du fait de leur complexité et de leur difficulté d'approche expérimentale. Dans l'étude présentée ici, on laissera de côté les mécanismes dus à la connectivité et à l'activité de réseau des neurones, pour se concentrer sur l'évaluation des propriétés électriques du milieu extracellulaire - et dans une moindre mesure, du filtrage dendritique, directement liés à la résolution des équations de câble.

La problématique qui sous-tend cette étude est donc la suivante : quelle est l'origine physique et physiologique des LFP, et quelles informations peut-on extraire de leur mesure ?

1.2 Les propriétés électromagnétiques du milieu extracellulaire

Au XVIIIe siècle, ceux qui s'appelaient « électriciens » ne connaissaient pas l'existence de l'électron - ni même la nature exacte de l'électricité. Un facteur ralentissant l'avancée de ces scientifiques est la difficulté de comprendre des phénomènes dont les éléments fondamentaux sont microscopiques (charge unitaire, conduction électrique) à partir d'expériences macroscopiques (ambre frotté, bouteille de Leyde...). Vers la fin du XIXe siècle, sans connaître la constitution électrique de la matière ni la relativité, James Maxwell est cependant parvenu à formuler une théorie de l'électromagnétisme faisant la synthèse d'innombrables observations expérimentales [65]. Le produit de cet exploit intellectuel était initialement un système de vingt équations, nombre plus tard réduit avec l'aide d'Oliver Heaviside.

Ces équations possèdent une forme macroscopique et une forme microscopique, reliant ainsi l'échelle d'observation principale et l'échelle la plus fondamentale. Il est donc désormais possible d'inverser l'approche des Ampère, Faraday, Gauss, et d'établir les fondements d'une théorie macroscopique prédictive du comportement électromagnétique du milieu cérébral extracellulaire, à partir de la formulation microscopique des équations de Maxwell et des spécificités de ce milieu (hétérogénéité, courants ioniques...). Cette démarche a permis le développement d'une théorie depuis 2004 par Bédard et Destexhe, établissant les concepts nécessaires à l'étude et à la compréhension de la formation des LFP ; cette théorie sera donc exposée en filigrane dans la suite de ce document.

1.2.1 D'une représentation microscopique...

L'exposé des lois de l'électromagnétisme sous leur forme la plus générale serait inutile et fastidieuse. Afin de simplifier leur introduction, on admettra que le milieu extracellulaire est :

1. isotrope : en un point, la conductivité et la permittivité sont scalaires, c'est-à-dire indépendantes des directions de l'espace. Cette hypothèse est évidemment fausse à l'échelle microscopique : un ion sodium, par exemple, aura bien plus de facilité à longer un axone qu'à s'en éloigner perpendiculairement - ce qui l'amène fatalement à rencontrer un obstacle comme une membrane plasmique. Toutefois, les électrodes utilisées en électrophysiologie donnent des valeurs moyennées sur un volume de l'ordre du million de micromètres cubes, représentant environ un million de milliards de molécules. On se réfère donc aux propriétés macroscopiques du milieu extracellulaire, ce qui permet de le considérer comme isotrope [7, 19, 47], ce qui est une bonne approximation des résultats expérimentaux [63, 91].
2. linéaire en fréquence : à une stimulation de fréquence ω correspond une réponse de fréquence ω . La qualité de cette approximation est illustrée plus loin (voir figure 2.2 D).

Hypothèses et relations fondamentales

Sous leur forme complète, les équations de Maxwell sont au nombre de quatre. Elles font intervenir six variables inconnues et deux paramètres, qui dépendent *a priori* de la

position et du temps :

- la densité de charges libres ρ_l (C m^{-3})
- la densité de courant de charges libres \vec{j}_l (A m^{-2})
- le champ électrique \vec{E} (V m^{-1}). Dans un milieu isotrope et linéaire, la loi d'Ohm locale qui relie \vec{j}_l et \vec{E} en un point donné s'exprime grâce à la conductivité (voir 1.1.2) :

$$\vec{j}_l(t) = \int_{-\infty}^{+\infty} \sigma(\tau) \vec{E}(t - \tau) d\tau$$

Cette intégrale de convolution décrit la dissipation thermique de l'énergie par la circulation ionique à l'application d'un champ électrique. Cette forme étant peu maniable, on se place dans le domaine fréquentiel où l'équation est algébrique : $\vec{j}(\omega) = \sigma(\omega) \vec{E}(\omega)$.

- la densité de courant de déplacement \vec{D} (C m^{-2}). Ce champ a été introduit par Maxwell pour décrire la réaction d'un matériau **diélectrique** à l'application d'un champ électrique et la polarisation \vec{P} qui en résulte. En effet, dans un matériau diélectrique comme une membrane plasmique, il existe des *charges liées*, c'est-à-dire les noyaux atomiques et leurs nuages électroniques, qui ne peuvent circuler. En revanche, lors de l'application d'un champ électrique, ces charges subissent un léger déplacement relatif : il y a une séparation de charges, donnant lieu à un champ électrique secondaire appelé polarisation. On peut interpréter ce léger déplacement de charge comme un *courant de charges liées*, en posant : $\vec{D}(\omega) = \epsilon_0 \vec{E}(\omega) + \vec{P}(\omega)$ (même remarque que précédemment sur le choix du domaine fréquentiel).

Dans un matériau isotrope et linéaire, $\vec{P}(\omega) \propto \vec{E}(\omega)$; on définit alors $\epsilon(\omega)$, la permittivité électrique du matériau polarisé (F m^{-1}), telle que : $\vec{D}(\omega) = \epsilon(\omega) \vec{E}(\omega)$.

- l'induction magnétique \vec{B} (T)
- le champ magnétique \vec{H} (A m^{-1})
- la perméabilité magnétique du milieu μ (H m^{-1}), définie par $\vec{B} = \mu \vec{H}$

On a déjà trois relations locales, dites « de constitution » ou « de liaison ». Ces relations font intervenir trois paramètres : la conductivité σ , la permittivité ϵ et la perméabilité magnétique μ . La connaissance de ces paramètres en tout point suffit à caractériser entièrement les propriétés électromagnétiques d'un milieu matériel.

Par souci de cohérence et de simplicité, les équations de Maxwell proprement dites sont directement formulées dans le domaine fréquentiel, où la dérivation par rapport au temps équivaut à une multiplication par $i\omega$, i étant l'unité imaginaire. Le lecteur pourra se reporter à la section A.1 en annexe pour une définition des notations employées ici.

- La loi de Gauss : les charges électriques sont la seule source du champ électrique :

$$\vec{\nabla} \cdot \vec{D} = \rho_l \quad (1.1)$$

- La loi de Thomson : si le champ électrique est généré par des « monopôles » (charges unitaires), il n'existe pas d'équivalent pour le champ magnétique. La divergence du champ magnétique est donc nulle.

$$\vec{\nabla} \cdot \vec{B} = 0 \quad (1.2)$$

- La loi de Faraday : les variations spatiales du champ électrique peuvent générer un champ magnétique, lequel influe sur la trajectoire des courants électriques (auto-induction). Alors, l'induction magnétique est exprimée par :

$$\vec{\nabla} \wedge \vec{E} = -i\omega \vec{B} \quad (1.3)$$

- La loi d'Ampère : le champ magnétique dépend du mouvement des charges électriques \vec{j}_l et de la variation temporelle du champ de déplacement électrique $\frac{\partial(\vec{D})}{\partial t}$. Dans le domaine fréquentiel :

$$\vec{\nabla} \wedge \vec{H} = \vec{j}_l + i\omega \vec{D} \quad (1.4)$$

Aux fréquences considérées ici (< 1 kHz), les effets magnétiques sont négligeables [11, 18, 35, 84]. On utilise alors l'approximation quasi-statique électrique, qui simplifie notablement le système :

- 1.2 est éliminée, sans conséquence sur la détermination du système d'équations puisque par hypothèse \vec{B} est négligeable.
- 1.3 devient :

$$\vec{\nabla} \wedge \vec{E} = \vec{0} \quad (1.5)$$

- Si on applique l'opérateur divergence aux deux membres de 1.4, on élimine le champ magnétique des équations car $\vec{\nabla} \cdot \vec{\nabla} \wedge \vec{A} = 0$ quel que soit le champ de vecteurs \vec{A} de classe C^2 . 1.4 devient :

$$\vec{\nabla} \cdot \vec{j}_l + i\omega \vec{\nabla} \cdot \vec{D} = 0 \quad (1.6)$$

Conservation du courant dans le milieu extracellulaire

L'équation 1.6 est sujette à diverses interprétations, présentées dans BÉDARD et collab. [11] et BÉDARD et DESTEXHE [9] et résumées ici.

Si le milieu est homogène. Certains auteurs [22, 64, 69, 91] considèrent que le milieu extracellulaire est homogène c'est-à-dire que σ et ϵ ne varient pas dans l'espace. Dans ces conditions, par définition de \vec{D} et avec la loi d'Ohm :

$$\vec{\nabla} \cdot (\sigma \vec{E}) + i\omega \vec{\nabla} \cdot (\epsilon \vec{E}) = 0 \quad (1.7)$$

$$(\sigma + i\omega\epsilon) \vec{\nabla} \cdot \vec{E} = 0 \quad (1.8)$$

On simplifie par $\sigma + i\omega\epsilon$, qui est constant dans l'espace par hypothèse. Dans le cadre de l'approximation quasi-statique électrique, $\vec{E} = -\vec{\nabla}V$ ¹

$$-\vec{\nabla} \cdot \vec{\nabla}V = 0 \quad (1.9)$$

$$\Delta V = 0 \quad (1.10)$$

Quelle que soit la fréquence considérée, l'équation et donc le système se comportent de manière identique. *Un milieu homogène n'a donc aucune propriété intrinsèque de filtrage*

1. La relation générale entre champ électrique et potentiel est en effet $\vec{E} = -\vec{\nabla}V - i\omega\vec{A}$, où \vec{A} est le potentiel vecteur du champ magnétique - négligeable dans les milieux biologiques pour des fréquences inférieures à 1 kHz.

fréquentiel : on dit qu'il est résistif. Le terme « ohmique » est également employé, pour signifier que la loi d'Ohm suffit à décrire le comportement du courant.

De plus, si on combine 1.6 et 1.10 :

$$\vec{\nabla} \cdot \vec{j}_l + i\omega\Delta V = 0 \quad (1.11)$$

$$\vec{\nabla} \cdot \vec{j}_l = 0 \quad (1.12)$$

Dans un milieu homogène, la loi de conservation de Kirchhoff s'applique au courant de charge libre. Ceci est équivalent à considérer l'accumulation de charges (effets capacitifs et de polarisation) comme négligeable.

Si le milieu est hétérogène. Dans le cas général, la divergence de \vec{j}_l est non nulle : le courant de charges libres n'est pas conservé, on ne peut pas lui appliquer la loi de Kirchhoff.

BÉDARD et DESTEXHE [9] proposent un outil intéressant. En définissant la *densité de courant de déplacement* $\vec{j}_d = \frac{\partial \vec{D}}{\partial t}$ (soit en fréquence : $\vec{j}_d = i\omega\vec{D}$) et la *densité de courant généralisé* $\vec{j}_g = \vec{j}_l + \vec{j}_d$, on obtient :

$$\vec{j}_g = \vec{j}_l + i\omega\vec{D} \quad (1.13)$$

$$\vec{\nabla} \cdot \vec{j}_g = \vec{\nabla} \cdot \vec{j}_l + \vec{\nabla} \cdot (i\omega\vec{D}) \quad (1.14)$$

D'après 1.6, le terme de droite est nul et donc :

$$\vec{\nabla} \cdot \vec{j}_g = 0 \quad (1.15)$$

Dans un milieu linéaire et isotrope, la densité de courant généralisé est toujours conservée. L'exemple d'un courant rencontrant un isolant électrique (tel qu'une membrane dans un milieu hétérogène, représentée par un condensateur) est représenté en figure 1.6. On appelle S , la surface du parallélépipède rectangle en pointillés et V , son volume. Lorsque le générateur est actif, un courant positif de charges libres passe à travers la paroi gauche S_1 ; dans un fil conducteur, tout le courant est sous la forme de charges libres :

$$i \simeq \int \int_{S_1} \vec{j}_l \cdot d^2\vec{s}$$

Pourtant, aucune charge ne passe à travers la paroi droite S_2 ; à cet endroit, tout le courant est sous forme de courant de déplacement :

$$i = \int \int_{S_2} \vec{j}_d \cdot d^2\vec{s} = \int \int_{S_2} \frac{\partial \vec{D}}{\partial t} \cdot d^2\vec{s}$$

Il y a donc accumulation de charges dans le volume V , et les lois de Kirchhoff ne sont pas valables pour le courant de charges libres. Pour le courant généralisé, le théorème de divergence de Gauss donne :

$$\int \int_S \vec{j}_g \cdot d^2\vec{s} = \int \int \int_V \vec{\nabla} \cdot \vec{j}_g \cdot d^3v$$

Le terme de droite est nul d'après 1.15. On peut alors conclure :

$$\int \int_S \vec{j}_g \cdot d^2\vec{s} = 0$$

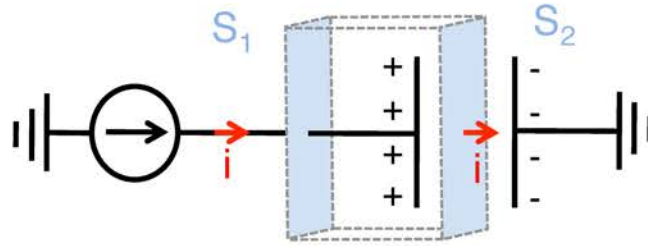


FIGURE 1.6 – Conservation du courant généralisé. Un générateur de courant charge un condensateur figuré par deux plaques noires parallèles ; il y a alors accumulation de charges positives sur la plaque de gauche et de charges négatives sur la plaque de droite. Le courant généralisé i est le même en tout point du circuit, à travers S_1 et S_2 .

Le courant généralisé entrant dans le pavé est exactement égal au courant généralisé sortant de ce pavé, en dépit de l'accumulation de charges ; ce concept est donc très utile dans le cas d'un milieu hétérogène.

De plus, les équations conservent une dépendance en fréquence : s'il est hétérogène, le milieu extracellulaire possède des propriétés de filtrage fréquentiel² ; on a alors

$$\Delta V + (\vec{\nabla} V) \cdot (\vec{\nabla} \log(\sigma + i\omega\epsilon)) = 0 \quad (1.16)$$

L'intérêt principal de cette équation est d'évaluer l'influence des variations de σ et ϵ dans l'espace et selon la fréquence ; mais en pratique, la détermination de ses paramètres et conditions aux limites est bien trop complexe.

Hétérogénéité microscopique du milieu extracellulaire

On a vu précédemment que les propriétés électriques et les outils d'étude du milieu extracellulaire sont très différents selon qu'on peut le considérer comme homogène ou non. Au niveau microscopique, ce milieu est l'enchevêtrement de corps cellulaires, axones, dendrites, vaisseaux sanguins montré en figure 1.7 ; des objets de propriétés électriques radicalement différentes alternent (membranes, matrice extracellulaire) à l'échelle de quelques nanomètres (voir estimations en table 1.1). Les expériences sur la diffusion passive menées entre autres par Sykova et Nicholson ([75, 102]) montrent que le liquide extracellulaire proprement dit représenterait 12 à 20 % du volume cérébral (BRAITENBERG et SCHÜZ [19] proposent une estimation plus basse, de l'ordre de 5 %). C'est un labyrinthe tortueux, comportant de nombreuses impasses, contraignant et modifiant le mouvement spontané des espèces chimiques s'y trouvant.

Cependant, cette hétérogénéité microscopique ne renseigne pas directement sur le comportement observable du milieu : en pratique, la mesure du potentiel électrique en un point du cerveau s'effectue par moyennage dans un volume de l'ordre du million de micromètres cubes, et par rapport à une référence éloignée. Le potentiel électrique, à cette échelle, est donc une fonction continue de l'espace [63], ce qui implique qu'au moins l'hétérogénéité n'est pas trop radicale. Pour étudier et prédire le comportement des champs électriques à cette échelle, il est donc nécessaire d'établir un formalisme macroscopique rigoureusement à partir des notions microscopiques qui précèdent. La jeunesse

2. Sauf si le rapport σ/ϵ est constant dans l'espace, ce qui est loin d'être le cas dans le milieu extracellulaire [11]

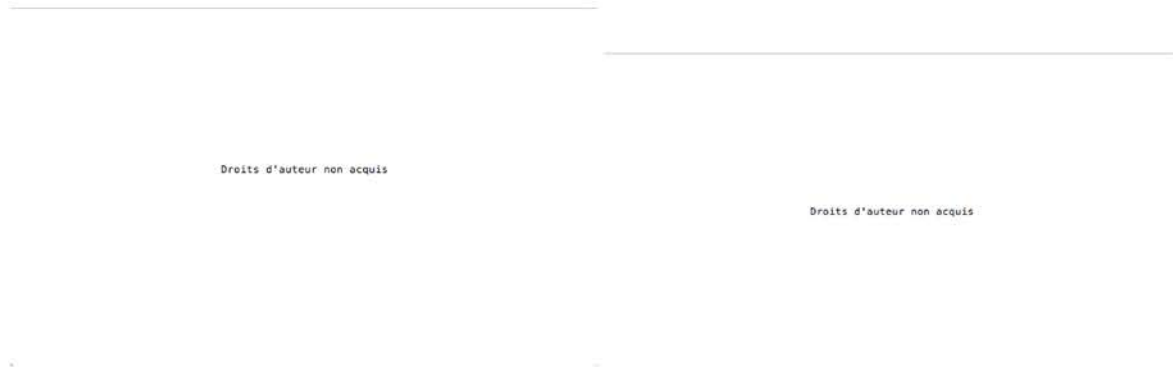


FIGURE 1.7 – Hétérogénéité microscopique du tissu cérébral, vue en microscopie électronique à transmission (Cortex de rat adulte, x 29000). À gauche : processus dendritiques ; à droite, apex de dendrites. (D'après PETERS et collab. [81].)

	σ (S m ⁻¹)	ϵ (F m ⁻¹)
Membrane plasmique	1–3,5.10 ⁻⁹	1–8.10 ⁻¹¹
Liquide extracellulaire	1,6	7.10 ⁻¹⁰

TABEAU 1.1 – Caractéristiques électriques microscopiques du milieu extracellulaire. Données provenant de BÉDARD et collab. [11], JOHNSTON et collab. [52], NUNEZ et SRINIVASAN [77], PETERS et collab. [81].

de ces outils conceptuels est une des raisons pour lesquelles les propriétés électriques du milieu extracellulaire restent si vivement débattues (voir 1.3.1).

1.2.2 ... à un formalisme macroscopique

Renormalisation

Ce saut qualitatif du microscopique au macroscopique se retrouve chez BÉDARD et DESTEXHE [7], qui ont avancé la théorie la plus générale à ce jour - c'est-à-dire comprenant le moins d'hypothèses, et valable par exemple dans un milieu hétérogène ou homogène. Ils définissent des paramètres électriques macroscopiques, grâce à une renormalisation dans un cadre de champ moyen. Les variations spatiales de σ et ϵ sont alors considérées comme continues, et ne reflètent plus directement l'alternance entre membranes plasmiques et solutions aqueuses. Les phénomènes électriques (conduction, polarisation, diffusion ionique...) résultant de la structure microscopique du milieu sont intégrés à la dépendance en fréquence de σ et ϵ , ce qui permet de conserver toute la généralité des équations. Cette dépendance en fréquence est cohérente avec la revue, les mesures et les modèles du tryptique de GABRIEL et collab. [37, 38, 39]. Dans les équations qui suivent, σ et ϵ désigneront désormais des moyennes macroscopiques.

Si σ et ϵ peuvent être évalués à l'aide d'une instrumentation adéquate (voir tableau 1.2), ces paramètres ne correspondent pas directement aux grandeurs traditionnellement utilisées en électrophysiologie : courant injecté, potentiel intracellulaire enregistré, résistances ou impédances...

	σ (S m ⁻¹)	ϵ (F m ⁻¹)	$\omega\epsilon/\sigma$
10 Hz	0,05	4.10^{-5}	0,05
1000 Hz	0,1	2.10^{-7}	0,01

TABLEAU 1.2 – Caractéristiques électriques macroscopiques du milieu extracellulaire, et leurs influences relatives dans l'impédance. La variation des grandeurs est monotone entre les extrêmes donnés ici. La permittivité donnée ici est absolue : $\epsilon = \epsilon_0 \epsilon_r$, où ϵ_r est la permittivité relative fournie par GABRIEL et collab. [38].

L'impédance, invariant physique macroscopique

Au niveau macroscopique, la loi d'Ohm exprime la proportionnalité entre la tension U mesurée aux bornes d'une résistance R traversée par un courant continu en régime établi I . La résistance est donc un invariant physique, ne dépendant que du milieu traversé par le courant et non de l'intensité ou de la tension qui lui sont appliquées. En électrophysiologie (et dans les conditions physiologiques pour un neurone), le régime est très souvent transitoire, et la composante continue est rarement seule à être enregistrée. On utilise donc la notion d'impédance, qui est une généralisation de la résistance aux milieux non-ohmiques - c'est-à-dire aux milieux dont le comportement varie avec la fréquence du courant qui le traverse.

Si la résistance a la même expression dans les domaines temporel et fréquentiel, l'impédance est une grandeur fondamentalement fréquentielle. C'est une fonction complexe de la fréquence, notée Z ; pour un stimulus sinusoïdal de fréquence ω où ϕ_U et ϕ_I sont les phases de la tension et du courant :

$$Z_\omega = \left| \frac{U_\omega}{I_\omega} \right| e^{i(\phi_U - \phi_I)}$$

L'expression exacte de l'impédance dans un milieu hétérogène et/ou à la géométrie complexe, comme le milieu extracellulaire, serait stérile théoriquement car extrêmement compliquée, et inutilisable expérimentalement faute de précision suffisante. Cependant, son expression pour une symétrie simple, fournie par [7], permet de comprendre sa relation aux paramètres σ et ϵ renormalisés. Pour une source de courant dans un milieu linéaire et isotrope présentant une symétrie sphérique, l'expression de Z en un point situé à une distance R de la source est :

$$Z(R, \omega) = \frac{1}{4\pi} \int_R^{+\infty} \frac{1}{\sigma(r, \omega) + i\epsilon(r, \omega)} \frac{1}{r^2} dr$$

Si le milieu est homogène, σ et ϵ ne dépendent pas de la position et ne peuvent dépendre de la fréquence (voir équation 1.10). L'expression de Z se simplifie alors en

$$Z(R) = \frac{1}{4\pi\sigma R}$$

Cette expression, fréquemment utilisée pour la modélisation des LFP et la détermination des sources de courant [64, 69], contient donc l'hypothèse implicite que le milieu cérébral est homogène et ne filtre donc pas les courants selon leur fréquence.

La présence d'une conductivité et d'une permittivité dépendantes de la position et de fréquence permet de décrire aussi bien les milieux homogènes que les milieux hétérogènes. Toutefois, pour ces derniers, la possibilité d'accumulation des charges libres et de polarisation impose de calculer Z à l'aide du courant généralisé. Heureusement, les amplificateurs modernes ont une impédance d'entrée très élevée (de l'ordre du $T\Omega$) et de composante capacitive négligeable (quelques pF). Dans un dispositif expérimental, le courant mesuré par l'amplificateur possède donc une composante de courant de déplacement négligeable, et peut être identifié au courant généralisé.

Rôles de la diffusion ionique et de la polarisation

Plusieurs phénomènes peuvent être à l'origine d'une dépendance en fréquence de σ et ϵ . Deux en particulier ont été étudiés dans la littérature : la diffusion ionique et la polarisation.

La diffusion ionique Le système nerveux des Eumétazoaires est parcouru de mouvements d'ions en solution. Ces ions subissent une friction lors de leur déplacement, amplifiée par la présence de couches de solvation autour d'eux, l'encombrement du milieu en membranes, protéines, polymères osidiques. Si cet effet est parfaitement analogue à la résistance subie par les électrons dans un matériau conducteur, un terme supplémentaire vient modifier la trajectoire des ions - et donc des courants : la diffusion ionique, phénomène statistique tendant à homogénéiser les concentrations ioniques, décrit par la loi de Fick. Le mouvement des charges ioniques (libres) est donc décrit entièrement par une combinaison des lois d'Ohm et de Fick - l'équation de Nernst-Planck [7, 52, 85] :

$$\frac{\partial C_i}{\partial t} + \vec{\nabla} \cdot (-D_i (\vec{\nabla} C_i + z_i C_i \vec{\nabla} \phi)) = 0 \quad (1.17)$$

où C_i , D_i et z_i sont la concentration, le coefficient de diffusion et la charge de l'espèce ionique i , et ϕ est le potentiel électrique.

Ce phénomène est notamment présent à l'interface entre le milieu cérébral et les électrodes qui y injectent du courant - donc des ions. Dès la fin du XIXe siècle, WARBURG [106] a montré que l'impédance d'un système présentant une diffusion ionique significative avait une forme caractéristique, non réductible aux dipôles usuels (résistance, condensateur ou bobine), dont le module se comporte comme $1/\sqrt{\omega}$ et la phase vaut $\pi/4$. Cette impédance a été surnommée « impédance de phase constante » ou « impédance de Warburg ».

Depuis, des formes similaires à cette impédance ont été observées sur des électrodes en solution [41, 42, 92]. Des dérivations de cette impédance théorique ont été effectuées en symétrie planaire [17] et sphérique [7] - cette dernière étant plus adaptée à un neurone, et qui donne :

$$Z_W = \frac{A + iB}{1 + \sqrt{i \frac{\omega}{\omega_W}}}$$

Où A et B sont des paramètres contrôlant le module et la phase, et $\omega_W = 2\pi f_W$, f_W étant la « fréquence de Warburg caractéristique » contrôlant la dépendance en fréquence

aux basses fréquences. Cette fréquence caractéristique peut être développée théoriquement, mais ROBINSON [92] en a une intuition expérimentale. En effet, il remarque qu'à basse fréquence (< 100 Hz), l'électrode n'est plus équivalente à une impédance variant comme $1/\omega$. Dans les expériences présentées ici, f_w est typiquement comprise entre 5 et 50 Hz, ce qui la rend pertinente dans le filtrage des courants aux fréquences des LFP.

Le lien entre diffusion ionique et comportement de la permittivité autour des fréquences associées aux LFP est avéré [37] ; dans un milieu hétérogène, la présence d'obstacles à la circulation des charges est susceptible de créer des accumulations de charges. L'existence de ces forts gradients ioniques pourrait alors accentuer l'importance de la diffusion ionique.

La polarisation est l'effet principal d'une permittivité élevée, en causant la séparation de charges liées - par exemple de part et d'autre d'une molécule voire d'une protéine insérée dans la membrane plasmique. D'après le tableau 1.2, la contribution de ce phénomène dans l'expression de l'impédance semble cependant être minoritaire pour les fréquences relevant des LFP car $\omega\epsilon/\sigma \ll 1$ entre 10 et 1000 Hz. BÉDARD et DESTEXHE [7] confirment que ce phénomène devrait être négligeable pour des fréquences supérieures à 1 Hz.

1.3 Mesure de l'impédance extracellulaire

1.3.1 Etat actuel des connaissances

Les efforts réalisés à ce jour pour déterminer si le milieu extracellulaire est homogène et résistif ou hétérogène - donc se comportant comme un filtre - ont donné des interprétations contrastées, se répartissant en deux catégories principales.

Milieu homogène

Une approche classique consiste à injecter un courant dans le cortex via une ou deux électrodes de métal, et à mesurer la tension suscitée par ce courant entre deux autres électrodes. Si en théorie deux électrodes pourraient suffire, la polarisation des électrodes injectant le courant fausse la mesure de leur potentiel, rendant nécessaire l'ajout de deux électrodes de mesure du potentiel [92, 95, 96].

- Avec des électrodes de platine, RANCK [91] mesure l'impédance spécifique du cortex de Lapin. Bien qu'il reconnaisse que « le cortex cérébral n'est pas homogène », il considère que « l'inhomogénéité due aux corps cellulaires disparaît à des distances qui sont grandes en comparaison du diamètre des corps cellulaires ». Observant qu'entre 5 et 5000 Hz le module varie d'un facteur inférieur à deux et la phase reste inférieure à 10 degrés (figure 1.8), il conclut que la dépendance en fréquence de cette impédance est négligeable.
 - Dans une revue célèbre de la littérature portant sur la détermination des sources de courant, MITZDORF [69] reconnaît que « les résultats entre différents laboratoires divergent, et la dispersion reportée des valeurs est élevée », mais conclut sur la bases d'expériences similaires à celles de Ranck qu'« à l'exception de la couche I, on peut supposer que le cortex du Chat est homogène ».
 - Dans un article plus récent, LOGOTHETIS et collab. [64] évaluent l'impédance du cortex de Macaque à l'aide d'une technique originale. Les quatre électrodes traditionnelles (figure 1.8 B) sont complétées par un dispositif de compensation de capacitance, et utilisées dans un régime particulier de saturation du voltage. En effet, les auteurs sont préoccupés par les possibles biais de la mesure dus à l'interface électrique entre les électrodes et le milieu. Cette interface, dont l'impédance varie en fonction de la densité de courant et de la fréquence, est modélisée comme une impédance de Warburg et considérée comme négligeable au niveau des électrodes d'enregistrement de la tension. En revanche, un effet non-linéaire est identifié : les électrodes injectant le courant se comportent, en première approximation, « comme des diodes Zener stabilisant le voltage ».
- Mettant à profit ce phénomène, les auteurs observent une impédance présentant une atténuation du module d'un facteur 1,5 sur trois décades, et une phase comprise entre -1 et -6 degrés entre 10 et 1000 Hz (figure 1.8 C et 1.8 D). Ils concluent que le tissu cérébral a un comportement essentiellement résistif, et peut être considéré comme homogène électriquement.

Droits d'auteur non acquis

FIGURE 1.8 – Impédance d'un milieu homogène. **A** : impédance spécifique mesurée dans le cortex de Lapin. Une électrode d'argent ou platine injecte des créniaux de courant ($2\text{-}5\text{ }\mu\text{A}$, $20\text{-}30\text{ ms}$), et la tension générée est mesurée par une micropipette de verre, relativement à une référence située dans le muscle temporal ; l'impédance est obtenue comme le rapport du courant et de la tension. L'abscisse est la partie réelle de l'impédance en $\Omega\text{ cm}$, l'ordonnée est sa partie imaginaire (mêmes unités). Les lettres représentent dans l'ordre alphabétique 5, 50, 500 et 5000 Hz. Extrait de RANCK [91]. **B** : Dispositif de mesure de l'impédance à quatre électrodes de platine iridié. Le courant est injecté par un générateur de fréquences, entre les électrodes périphériques ; la différence de potentiel suscitée est transmise à un amplificateur par les électrodes centrales. C_s est la capacitance survenant entre les fils joignant les électrodes, et pouvant générer des interférences. L'impédance du tissu cortical est la somme des impédances des tissus compris entre chaque paire d'électrodes adjacentes (Z_+ , Z_T et Z_-). Extrait de LOGOTHETIS et collab. [64]. **C, D** : Module et phase de l'impédance mesurée *in vivo* dans un cortex de Macaque, en ohms et en degrés respectivement, en fonction de la fréquence.

Milieu hétérogène

HUBBARD et collab. [47] avancent l'idée simple selon laquelle « dans un milieu essentiellement constitué de cellules, dotées d'une assez grande capacité membranaire, l'impédance totale pour les composantes de haute fréquence d'une onde de courant doit être moindre que pour les composantes de basse fréquence ». Ce point de vue est soutenu et complété par divers arguments théoriques et expérimentaux :

- Jusque dans les années 1980, le comportement de la conductivité et de la permittivité n'était connu pour le cerveau que pour des fréquences supérieures à 100 kHz [29, 37]. Les travaux de GABRIEL et collab. [38] ont comblé cette lacune, en mesurant ces paramètres dans des tissus cérébraux frais à l'aide d'une sonde de très basse impédance ($50\ \Omega$) et en appliquant les corrections jugées nécessaires (interférences, polarisation et capacité de la sonde...). Les résultats, présentés en figure 1.9 A, montrent une dépendance en fréquence très marquée pour ϵ entre 10 et 1000 Hz, et plus faible pour σ (voir aussi un résumé dans le tableau 1.2). Des résultats similaires ont été présentés par WAGNER et collab. [104].
- En utilisant des neurones comme sources de courant sinusoïdales chez le Rat (in vitro), NELSON et collab. [72] ont enregistré le LFP généré à distance, en présence et en absence d'obstacle visible (cellule, vaisseau sanguin...) entre le neurone patché et l'électrode de LFP. Les inhomogénéités microscopiques de la tranche altèrent significativement le module et la phase des LFP ; cet effet est variable selon les fréquences. Ceci confirme les hypothèses avancées par ROBINSON [92].
- Dès son *Traité d'électricité et de magnétisme* fondateur, MAXWELL [65] calcule qu'un condensateur composé d'un diélectrique isotrope et homogène se décharge entièrement si on le court-circuite. Cependant, il observe que « dans la plupart des condensateurs dont nous disposons effectivement, nous voyons se développer peu à peu [...] une nouvelle charge de même nature que la première, mais d'intensité moindre : c'est ce qu'on appelle la charge résiduelle. ». Cette propriété se retrouvant dans un condensateur formé d'un « mille-feuilles » de deux diélectriques alternés (ne manquant pas de ressembler au tissu cérébral), il en tire plusieurs conclusions, parmi lesquelles :
 1. la forme des équations permet de considérer que « s'il y a plusieurs couches formées d'une même substance, on peut les supposer réunies en une seule, sans changer en rien les phénomènes ».
 2. ce phénomène, qu'il attribue à l'adsorption électrique, doit survenir « dans le cas de substances faites d'éléments de natures diverses, quand même ces éléments seraient de dimensions microscopiques ».

Ainsi, deux milieux apparemment homogènes à l'échelle macroscopiques peuvent avoir des comportements fondamentalement différents selon leur structure microscopique. Cet argument renforce la pertinence du formalisme de champ moyen évoqué précédemment.

- La dépendance en fréquence des EEG et MEG aux basses fréquences (< 10 Hz) est significativement différente, ce qui est caractéristique d'un milieu extracellulaire hétérogène [25].
- BÉDARD et DESTEXHE [7] ont développé un modèle hétérogène du milieu extracellulaire prenant en compte la polarisation et la diffusion ionique, agrégées dans des

paramètres σ et ϵ dépendants de la fréquence. Ce modèle, le premier à avancer une explication physique cohérente pour des résultats très différents de la littérature, est le plus à même d'expliquer les résultats obtenus par Gabriel ou Wagner (voir fig. 1.9 B) et la structure de la DSP des LFP corticales chez le Chat éveillé. Les auteurs avancent que la saturation en voltage et les forts courants (jusqu'à 20 μ A) employés dans les expériences de LOGOTHETIS et collab. [64] limiterait fortement la diffusion ionique, cas dans lequel leur modèle prédit un comportement résistif du milieu effectivement observé.

- Ce même modèle, où la polarisation et la diffusion ionique sont pris en compte, est capable de prédire les relations existant entre le potentiel intracellulaire et le LFP [13].
- Les dépendances en fréquence de $\sigma(\omega)$ et $\epsilon(\omega)$ sont reliées par les relations de Kramers-Kronig, contrainte exprimant le principe de causalité dans un milieu linéaire [59]. Les mesures indépendantes de σ et ϵ réalisées par GABRIEL et collab. [38] vérifient cette condition. De plus, ces équations stipulent qu'une dépendance en fréquence faible pour σ entraîne une forte dépendance en fréquence pour ϵ [8], rendant peu probable l'hypothèse d'un milieu résistif même pour une conductivité dépendant peu de la fréquence comme chez LOGOTHETIS et collab. [64] et RANCK [91].

L'interface des électrodes, un artefact inévitable ?

Une préoccupation commune à tous les auteurs de la discipline est l'interface des électrodes de mesure. Ce problème constitue un champ disciplinaire à lui seul, vieux de plus d'un siècle (l'impédance de Warburg a été théorisée en étudiant l'impédance des électrodes de platine) et latent en arrière-plan des neurosciences [73].

De nombreux efforts ont été faits pour comprendre la nature de l'interface électrique entre des électrodes de divers métaux ou alliages et le tissu cérébral (parmi lesquels : GEDDES [41], HENS et GOMES [46], MCADAMS et JOSSINET [66, 67], MITZDORF [69], NELSON et collab. [72], OUATTARA et DIACO [78], WARBURG [106, 107]), et s'en affranchir en espérant mesurer une impédance du milieu « en soi », c'est-à-dire indépendante de la technique de mesure et de cet interface [37, 38, 64, 90, 91, 95, 96]. Les circuits équivalents de l'interface entre électrode(s) et milieu sont très divers, des circuits RC simples ou élaborés [92], des impédances de Warburg [41, 92]...

Cet état de fait conduit à des normalisations, corrections, astuces techniques, hypothèses, extrapolations ou autres contorsions théoriques et expérimentales qui souvent ne sont qu'une fuite en avant déplaçant le problème. Chercher à savoir si un milieu possède une impédance « en soi », absolue, indépendante du système de mesure, c'est toujours être en butte à l'épineux problème épistémologique du bruit que fait un arbre qui tombe s'il n'y a personne pour l'entendre. Ainsi, il est quasiment impossible de savoir si, en supprimant la polarisation de l'électrode et/ou la diffusion ionique alentour (pendant ou après l'expérience), on ne masque pas également des propriétés du milieu qui seraient pertinentes pour la compréhension des LFP ; il est délicat de savoir si l'injection de courants peu physiologiques révèle des phénomènes importants ou accessoires. Pire encore : la diversité des systèmes de mesure et des paradigmes employés rend délicate la comparaison entre différents résultats et entre leurs champs d'application.

De plus, une expérience est toujours lancée dans un cadre théorique donné, qui permet de formuler une hypothèse sur son issue. La diversité des hypothèses sur la nature de l'impédance extracellulaire et des instruments de travail est due à l'absence - ou peut-être,

Droits d'auteur non acquis

FIGURE 1.9 – Impédance d'un milieu hétérogène. **A** : Conductivité et permittivité relative de tissus cérébraux d'animaux fraîchement sacrifiés. Les mesures ont été réalisées par une sonde de très basse impédance ($50\ \Omega$). (D'après GABRIEL et collab. [38]). **B** : Conductivité expérimentale et théoriques de tissus cérébraux animaux. G : données expérimentales de GABRIEL et collab. [38] (extrapolées en-dessous de 10 Hz par un modèle phénoménologique dit de Cole-Cole); N : modèle résistif. D : modèle tenant compte de la diffusion ionique; P : modèle tenant compte de la polarisation des cellules; DP : modèle combinant les deux précédents. **C** : Densité spectrale de puissance d'un LFP enregistré dans le cortex pariétal d'un chat éveillé, en fonction de la fréquence. Echelle logarithmique (log naturel). **D** : Densité spectrale de puissance d'un LFP reconstruit en utilisant le modèle de polarisation-diffusion. Les courants synaptiques ont été reconstruits en convoluant les trains de potentiels d'action enregistrés avec des exponentielles décroissantes ($\tau = 10\text{ ms}$). **B, C, D** d'après BÉDARD et DESTEXHE [7].

comme on l'a vu, à la jeunesse - d'un cadre théorique permettant d'expliquer la grande majorité des résultats à partir des phénomènes physiques fondamentaux.

En résumé, chaque conclusion provient d'un formalisme et d'un concept de l'impédance consubstantiels à la technique employée : « consciemment ou non, la décision d'employer un appareillage particulier, d'une manière particulière, sous-entend qu'un certain genre de circonstances seulement se présentera. » [57].

Trouver un cadre théorique général est donc nécessaire ; cette théorie doit s'appuyer sur un concept d'impédance et un système de mesure se confondant autant que possible avec les conditions physiologiques.

1.3.2 Système de mesure basé sur le concept d'impédance naturelle

Principe de la méthode

Utiliser un neurone patché en configuration cellule entière comme source de courant présente de nombreux avantages. Premièrement, si l'« électrode » est un neurone, l'interface entre l'« électrode » et le milieu extracellulaire n'est plus un filtre à éliminer mais une composante pertinente de l'impédance à mesurer. En effet, tout courant sortant d'un neurone passe à travers cette interface avant de se répandre dans le milieu extracellulaire. Deuxièmement, puisqu'il n'est plus nécessaire de corriger ou normaliser l'impédance mesurée, le risque de sous- ou sur-correction est éliminé. Troisièmement, le neurone peut être utilisé dans une gamme de courant correspondant à son fonctionnement normal, ce qui rend l'impédance mesurée directement utilisable pour comprendre la genèse physiologique des LFP.

L'impédance mesurée par cette technique sera donc appelée par la suite *impédance naturelle*.

Quelques précautions sont à prendre pour cette méthode de mesure :

Linéarité du système. L'expérimentateur doit s'assurer que le neurone patché demeure en régime sous-liminaire, ce qui conserve la linéarité des phénomènes (voir figure 2.2 D) et des équations. En effet, pour des variations du potentiel intracellulaire inférieures à 30 mV, l'activité des canaux voltage-dépendants violant la loi d'Ohm est négligeable. Si l'on considère les membranes biologiques comme des condensateurs imparfaits (par exemple présentant une diffusion ionique non négligeable), l'équation de Nernst-Planck et l'expression de la capacitance d'une membrane biologique ont une expression linéaire en potentiel pour de petites variations [3, 6, 77].

La précision de la méthode. Celle-ci est meilleure *in vitro*, car l'activité spontanée est très faible en tranche, et peut être abolie pharmacologiquement si nécessaire³. Le contrôle de l'expérimentateur sur le courant délivré par le neurone est bien meilleur qu'*in vivo*. Cependant, pour peu que les enregistrements comportant des potentiels d'action soit exclus, le moyennage des grandeurs enregistrées sur de nombreuses injections du même

3. Quelques potentiels post-synaptiques, principalement excitateurs, peuvent être observés ; cependant, cette activité est très rare et disparaît rapidement avec le moyennage.

courant permet d'augmenter le rapport signal/bruit, in vivo comme in vitro ⁴.

La connaissance des paramètres. On pourrait reprocher au dispositif de déplacer le problème de la mesure de l'impédance extracellulaire, car l'impédance mesurée inclut les contributions somatiques et dendritiques ; toutefois, ces paramètres sont caractérisés par des méthodes indépendantes. Ainsi, leur présence parmi les paramètres mesurables n'est pas rédhibitoire, et permet au contraire d'évaluer la méthode employée.

Limitation de l'influence du dispositif sur le système à mesurer. Le système employé comporte une électrode d'argent chloruré, baignant dans l'ACSF au sein d'une pipette de patch. Il est aisé de vérifier que l'impédance de cette électrode est quasiment indépendante de la fréquence entre 1 et 1000 Hz (voir figure 1.10) ; de plus, son module la rend négligeable devant les impédances en série dans le système (typiquement 3 MΩ contre 150 MΩ à 10 Hz).

Les compensations usuelles. Lorsqu'on se place en courant imposé en patch-clamp, deux compensations sont d'usage afin de limiter les artefacts :

1. La capacitance de la pipette est évaluée au moment du scellement, lorsqu'un neurone est attaché à l'extrémité de la pipette. L'impédance vue par l'amplificateur est alors celle d'une résistance de scellement R_{sc} en parallèle avec un condensateur de capacité C_{pip} ; $Z_s c(\omega) = 1/R_{sc} + i\omega C_{pip}$. Lors du scellement, R_{pip} étant de l'ordre de plusieurs GΩ, il est facile de mesurer C_{pip} avec précision. Par la suite, l'amplificateur fournit en temps réel un courant compensant les charges et décharges de cette capacitance. Cette compensation étant standardisée et ne portant que sur quelques pF dus exclusivement à la pipette, elle a été appliquée durant les expériences présentées ici. L'unique effet indésirable de cette technique est l'introduction d'une petite marge d'erreur sur l'évaluation de la capacitance membranaire.
2. Le « pont » (ou *bridge*) est une compensation supposée atténuer la perte de voltage subie à travers la résistance d'accès, ce qui peut être pris en compte hors ligne dans la représentation électrique du circuit, par l'impédance intracellulaire. Cette compensation sert également à limiter la présence d'artefacts aux hautes fréquences afin de mieux enregistrer des événements rapides tels des potentiels d'action, ce qui est de peu d'intérêt ici. De plus, le mécanisme exact de cette compensation est généralement protégé par le secret industriel, et est susceptible de varier d'un amplificateur à l'autre (par exemple selon qu'il est analogique ou numérique). Après vérification de son impact nul sur les résultats, ce mécanisme a été désactivé pour la récolte de toutes les données présentées ici.

Dans les articles qui suivent, les cellules pyramidales de la couche V du cortex ont été choisies. La géométrie non sphérique de ces cellules les rend susceptibles de contribuer fortement aux LFP - et donc de susciter d'importants courants extracellulaires dont on se propose d'observer le filtrage. Le choix de la région corticale correspond à une faible densité de neurones - donc un "bruit" faible en LFP, dans une structure abondamment documentée, et dont les contributions aux EEG pourraient être évaluées à terme.

4. La variabilité aléatoire est réduite d'un facteur \sqrt{n} pour n répétitions de la réponse [63].

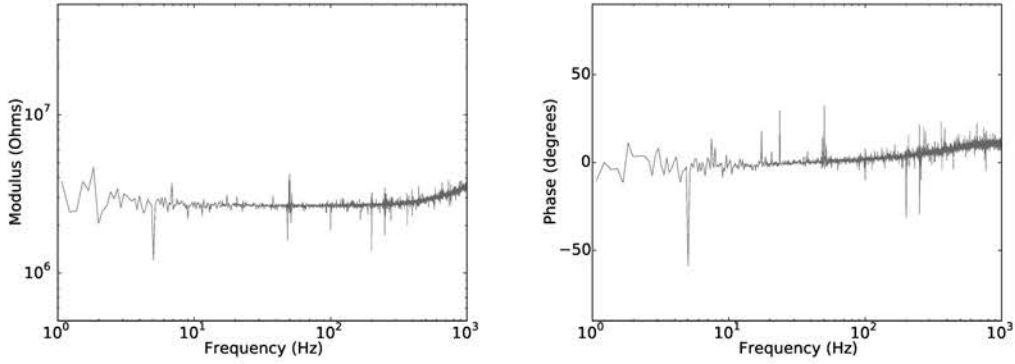


FIGURE 1.10 – Impédance de l'électrode d'argent chloruré, mesurée dans une pipette de patch remplie d'ACSF. À gauche : module de l'impédance (échelles logarithmiques) ; à droite, phase de l'impédance (échelle logarithmique en abscisses).

Une fois le système de mesure conçu, il est nécessaire d'en avoir une représentation physique à la fois simple et précise pour interpréter les résultats obtenus.

Modélisation du système de mesure en action

Le circuit équivalent du système est donné en figure 2.2 C. Pour un modèle du neurone à un compartiment, la forme générale de l'impédance mesurée entre l'électrode d'argent chloruré et la masse est :

$$Z_{eq}(\omega) = Z_i(\omega) + \frac{R_m}{1 + i\omega\tau_m} + Z_e(\omega)$$

où τ_m est la constante de temps membranaire. Dans le modèle résistif, on peut agréger les impédances intra et extracellulaires en une seule composante indépendante de la fréquence :

$$Z_{eq}^{res}(\omega) = R_e + \frac{R_m}{1 + i\omega\tau_m}$$

Dans le modèle diffusif, ces deux composantes peuvent être agrégées en une impédance diffusive, dont la forme est adaptée depuis BÉDARD et DESTEXHE [7] :

$$Z_{eq}^{diff}(\omega) = \frac{R_m}{1 + i\omega\tau_m} + \frac{A + iB}{1 + \sqrt{\omega/\omega_W}}$$

Un élément de comparaison simple entre ces deux modèles est l'évolution du module en fonction de la fréquence : $Z_{eq}^{res} \propto 1/\omega$ alors que $Z_{eq}^{diff} \propto 1/\sqrt{\omega}$ si l'impédance de Warburg n'est pas négligeable devant l'impédance de la membrane.

Evaluation du rôle des dendrites

Une critique possible de ce modèle est la simplicité de sa géométrie, qui néglige les courants dans les processus et donc un éventuel filtrage dendritique [61, 82]. La modélisation du flux du courant dans plusieurs compartiments de forme allongée a été théorisée depuis la fin du XIXe siècle par les équations de câble du futur Lord Kelvin, et appliquée

aux neurosciences depuis le travail fondateur de RALL [88]. Cette modélisation permet de représenter l'arbre dendritique par un cylindre équivalent ; l'équation de câble est alors :

$$\lambda^2 \frac{\partial^2 V}{\partial x^2} + K \frac{\partial V}{\partial x} = \tau \frac{\partial V}{\partial t} + V$$

où x est la position le long de l'arbre, λ est la longueur électrotonique du câble, K est un facteur exprimant le degré de ramification de l'arbre (facteur nul en l'absence de ramification), et τ est la constante de temps du câble. Les valeurs de λ et τ peuvent être estimée d'après la littérature. Si le diamètre du cylindre équivalent est fixé, K ne dépend que d'un seul paramètre (la longueur équivalente du cylindre).

Les hypothèses sur lesquelles reposent ce formalisme doivent être examinées attentivement. Si l'approximation quasi-statique électrique et l'hypothèse de linéarité sont aisées à justifier, « toutes les complications de la physiologie membranaire (incluant la diffusion) [sont] agrégées en deux paramètres seulement - la conductivité membranaire globale et la constante diélectrique » [77]. Les équations développées par BÉDARD et DESTEXHE [9], plus générales et prenant spécifiquement en compte la diffusion ionique, ont donc été utilisées (Chapitre 3). Plus précisément, puisque le modèle proposé ici ne cherche pas à calculer un potentiel en tout point mais à exprimer des impédances équivalentes, les expressions des impédances dendritique et extracellulaire ont été en partie adaptées depuis BÉDARD et DESTEXHE [9] (voir 2.2).

1.3.3 L'impédance naturelle, outil d'investigation des LFP

Patcher une cellule pyramidale permet de générer des « LFP unitaires » à volonté. L'enregistrement de ces LFP à distance réduite ($\approx 10\mu\text{m}$) de la source permet de mettre à contribution - et à l'épreuve - les résultats obtenus sur l'impédance naturelle.

La fonction de transfert

Ce dispositif expérimental permet de connaître le potentiel en trois points, séparés par les impédances représentées en figure 4.4.1. Les relations temporelles entre ces potentiels sont complexes, et font intervenir des dérivées d'ordre 1 ou plus [47, 76]. Dans le domaine fréquentiel, le comportement électrique du milieu est linéaire, ce qui simplifie considérablement le formalisme. En choisissant $V_{ref} = 0$, on définit alors la fonction de transfert :

$$H(\omega) = \frac{V_{LFP(\omega)}}{V_i(\omega)}$$

En interprétant la figure 4.4.1 comme un diviseur de tension, et en incluant Z_i dans Z_{e1} on obtient :

$$H(\omega) = \frac{Z_{e2}}{Z_m + Z_{e1} + Z_{e2}}$$

où $Z_m = R_m / (1 + i\omega\tau_m)$. La valeur et la dépendance en fréquence de Z_{e1} et Z_{e2} - c'est-à-dire deux éléments de l'impédance extracellulaire - sont cruciaux dans l'expression de cette fonction de transfert. Selon que le modèle résistif ou diffusif est adopté, les valeurs

prises par H diffèrent significativement - en particulier dans le filtrage des hautes fréquences.

La connaissance de H et la compréhension de son expression pourraient donc permettre de relier plus précisément l'activité intracellulaire et le spectre de la DSP des LFP.

Problèmes direct et inverse

Traditionnellement, les LFP sont vus par le prisme de deux problèmes complémentaires :

Le problème direct. La prédiction des LFP nécessite de connaître l'activité des neurones alentour, leur géométrie et les propriétés électriques de tous les éléments en présence. En pratique, ces éléments sont mal connus ; l'activité principale autour du problème direct consiste essentiellement à en proposer des modèles, et à prédire l'amplitude, la cohérence, et la structure temporelle (ou fréquentielle, ce qui est équivalent) des LFP [5, 7, 11–13, 61, 62, 85, 112]. Les résultats sont alors confrontés aux enregistrements de LFP existants, en tenant compte de la géométrie locale, de l'état d'activité de la zone enregistrée, et de nombreux autres paramètres. Les chapitres 3 et 4 font appel à cette approche, en reliant les potentiels intra et extracellulaires par la fonction de transfert et par la modélisation des impédances traversées à l'aide des outils théoriques du chapitre 2.

Le problème inverse. Si l'activité des neurones individuels est aujourd'hui bien caractérisée, connaître l'activité simultanée de plusieurs neurones est particulièrement difficile. En effet, l'accès électrique direct aux cellules ne peut être obtenu, au mieux, que pour un très faible échantillon d'une population durant quelques heures. L'insertion de barrettes d'électrodes de LFP permet d'avoir accès à un reflet de l'activité de dizaines de milliers de neurones durant des temps plus longs, mais le détail des décharges de chaque neurone est noyé dans la masse des signaux, et par les mécanismes d'atténuation forte de l'activité de haute fréquence. Souvent, les électrodes de LFP permettent l'identification de plusieurs neurones par « *spike sorting* » ; cependant, la détermination exacte des sources de courant reste un problème extrêmement ardu, sous-déterminé, dépendant de nombreuses inconnues, dont les solutions multiples sont délicates voire impossibles à confirmer expérimentalement.

Lors de ces enregistrements, les courants sont générés par les neurones et conduits dans l'espace tridimensionnel du milieu extracellulaire, ce qui se rapproche fortement des conditions de détermination de l'impédance naturelle. Aussi, l'impact de ce concept et du modèle physique qui lui est associé sera évalué dans les techniques de détermination de la densité de sources de courant – ou *Current Source Density*– (CSD) dans les chapitres 3 et 4.

Evaluer l'adéquation entre modèles et données

L'adéquation des modèles aux données expérimentales sera évaluée selon les étapes suivantes :

1. Exploration de l'espace des paramètres afin de déterminer les paramètres les plus plausibles (ajustement ou « *fit* »). Les besoins très spécifiques de cette étape ont

conduit à l'élaboration d'une stratégie computationnelle qui, semble-t-il, n'a pas encore été incluse dans les modules calcul scientifique libres. L'annexe [A.2](#) propose une mise en œuvre de cette stratégie, ainsi qu'une discussion de son utilité.

2. Calcul de l'erreur entre les prédictions de chaque modèle et les mesures.
3. Le cas échéant, un test statistique est employé pour choisir le meilleur modèle.

1.4 Références

- [1] ABELES, M. 1982, *Local cortical circuits*, Springer, Berlin.
- [2] ADRIAN, E. D. et B. MATTHEWS. 1934, «The interpretation of potential waves in the cortex», *The Journal of physiology*, vol. 81, n° 4, p. 440–471.
- [3] ALVAREZ, O. et R. LATORRE. 1978, «Voltage-dependent capacitance in lipid bilayers made from monolayers.», *Biophysical journal*, vol. 21, n° 1, p. 1.
- [4] AMARAL, D., P. LAVENEX et collab.. 2007, «Hippocampal neuroanatomy», *The hippocampus book*, vol. 1, n° 3, p. 37–114.
- [5] BARANAUSKAS, G., E. MAGGIOLINI, A. VATO, G. ANGOTZI, A. BONFANTI, G. ZAMBRA, A. SPINELLI et L. FADIGA. 2012, «Origins of 1/f² scaling in the power spectrum of intracortical local field potential», *Journal of neurophysiology*, vol. 107, n° 3, p. 984–994.
- [6] BÉDARD, C. et A. DESTEXHE. 2008, «A modified cable formalism for modeling neuronal membranes at high frequencies.», *Biophysical journal*, vol. 94, n° 4, doi : 10.1529/biophysj.107.113571, p. 1133–43, ISSN 1542-0086.
- [7] BÉDARD, C. et A. DESTEXHE. 2009, «Macroscopic models of local field potentials and the apparent 1/f noise in brain activity», *Biophysical journal*, vol. 96, n° 7, p. 2589–2603.
- [8] BÉDARD, C. et A. DESTEXHE. 2011, «Generalized theory for current-source-density analysis in brain tissue», *Physical Review E*, vol. 84, n° 4, p. 041 909.
- [9] BÉDARD, C. et A. DESTEXHE. 2013, «Generalized cable theory for neurons in complex and heterogeneous media», *Physical Review E*, vol. 88, n° 2, p. 022 709.
- [10] BÉDARD, C., H. KROEGER et A. DESTEXHE. 2006, «Does the 1/f frequency scaling of brain signals reflect self-organized critical states?», *Physical review letters*, vol. 97, n° 11, p. 118 102.
- [11] BÉDARD, C., H. KRÖGER et A. DESTEXHE. 2004, «Modeling extracellular field potentials and the frequency-filtering properties of extracellular space», *Biophysical journal*, vol. 86, n° 3, p. 1829–1842.
- [12] BÉDARD, C., H. KRÖGER et A. DESTEXHE. 2006, «Model of low-pass filtering of local field potentials in brain tissue», *Physical Review E*, vol. 73, n° 5, p. 1–15.
- [13] BÉDARD, C., S. RODRIGUES, N. ROY, D. CONTRERAS et A. DESTEXHE. 2010, «Evidence for frequency-dependent extracellular impedance from the transfer function between extracellular and intracellular potentials», *Journal of computational neuroscience*, vol. 29, n° 3, p. 389–403.
- [14] BELITSKI, A., A. GRETTON, C. MAGRI, Y. MURAYAMA, M. A. MONTEMURRO, N. K. LOGOTHETIS et S. PANZERI. 2008, «Low-frequency local field potentials and spikes in primary visual cortex convey independent visual information», *The Journal of Neuroscience*, vol. 28, n° 22, p. 5696–5709.

- [15] BENNETT, M., M. F. SCHATZ, H. ROCKWOOD et K. WIESENFELD. 2002, «Huygens's clocks», *Proceedings : Mathematics, Physical and Engineering Sciences*, p. 563–579.
- [16] BERGER, H. 1929, «Über das elektrenkephalogramm des menschen», *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, vol. 87, n° 1, p. 527–570.
- [17] BISQUERT, J., G. GARCIA-BELMONTE, F. FABREGAT-SANTIAGO et P. R. BUENO. 1999, «Theoretical models for ac impedance of finite diffusion layers exhibiting low frequency dispersion», *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 475, n° 2, p. 152–163.
- [18] BOSSETTI, C. A., M. J. BIRDNO et W. M. GRILL. 2008, «Analysis of the quasi-static approximation for calculating potentials generated by neural stimulation», *Journal of neural engineering*, vol. 5, n° 1, p. 44.
- [19] BRAITENBERG, V. et A. SCHÜZ. 2013, *Cortex : statistics and geometry of neuronal connectivity*, Springer Science & Business Media.
- [20] BREMER, F. 1938, *L'activité électrique de l'écorce cérébrale*, Hermann & Cie.
- [21] BREMER, F. 1938, «Ondes électriques de l'écorce cérébrale et influx nerveux corticifuges», *Compt. rend. Soc. biol.*, vol. 128, p. 550–555.
- [22] BUZSÁKI, G., C. A. ANASTASSIOU et C. KOCH. 2012, «The origin of extracellular fields and currents–EEG, ECoG, LFP and spikes.», *Nature reviews. Neuroscience*, vol. 13, n° 6, doi :10.1038/nrn3241, p. 407–20, ISSN 1471-0048.
- [23] CATON, R. 1875, «The electric currents of the brain», *British Medical Journal*, p. 278.
- [24] CREUTZFELDT, O. D., S. WATANABE et H. D. LUX. 1966, «Relations between EEG phenomena and potentials of single cortical cells. I. Evoked responses after thalamic and erpicortical stimulation.», *Electroencephalography and clinical neurophysiology*, vol. 20, n° 1, p. 1–18, ISSN 00134694.
- [25] DEGHANI, N., C. BÉDARD, S. S. CASH, E. HALGREN et A. DESTEXHE. 2010, «Comparative power spectral analysis of simultaneous electroencephalographic and magnetoencephalographic recordings in humans suggests non-resistive extracellular media.», *Journal of computational neuroscience*, vol. 29, n° 3, p. 405–21, ISSN 1573-6873.
- [26] DESTEXHE, A. 1998, «Spike-and-wave oscillations based on the properties of gabab receptors», *The Journal of neuroscience*, vol. 18, n° 21, p. 9099–9111.
- [27] DESTEXHE, A., D. CONTRERAS et M. STERIADE. 1999, «Spatiotemporal analysis of local field potentials and unit discharges in cat cerebral cortex during natural wake and sleep states.», *Journal of Neuroscience*, vol. 19, p. 4595–4608.
- [28] DESTEXHE, A. et T. J. SEJNOWSKI. 2001, «Thalamocortical assemblies : How ion channels, single neurons and large-scale networks organize sleep oscillations.», .
- [29] DURNY, C. H., H. MASSOUDI et M. F. ISKANDER. 1986, «Radiofrequency radiation dosimetry handbook», cahier de recherche, DTIC Document.

- [30] ECCLES, J. 1951, «Interpretation of action potentials evoked in the cerebral cortex», *Electroencephalography and clinical neurophysiology*, vol. 3, n° 4, p. 449–464.
- [31] EINEVOLL, G. T., K. H. PETTERSEN, A. DEVOR, I. ULBERT, E. HALGREN et A. M. DALE. 2007, «Laminar population analysis : estimating firing rates and evoked synaptic activity from multielectrode recordings in rat barrel cortex», *Journal of neurophysiology*, vol. 97, n° 3, p. 2174–2190.
- [32] ELUL, R. 1972, «The genesis of the eeg», *International review of neurobiology*, vol. 15, p. 227–272.
- [33] FARMER, S. F. 1998, «Rhythmicity, synchronization and binding in human and primate motor systems», *Journal of Physiology*, vol. 509, n° 1, p. 3–14, ISSN 00223751.
- [34] FRANCIS, J. T., B. J. GLUCKMAN et S. J. SCHIFF. 2003, «Sensitivity of neurons to weak electric fields», *The Journal of neuroscience*, vol. 23, n° 19, p. 7255–7261.
- [35] FREEMAN, W. J. 2012, *Mass action in the nervous system*, Elsevier.
- [36] FRÖHLICH, F. et D. A. MCCORMICK. 2010, «Endogenous electric fields may guide neocortical network activity», *Neuron*, vol. 67, n° 1, p. 129–143.
- [37] GABRIEL, C., S. GABRIEL et E. CORTHOUT. 1996, «The dielectric properties of biological tissues : I. literature survey», *Physics in medicine and biology*, vol. 41, n° 11, p. 2231.
- [38] GABRIEL, S., R. LAU et C. GABRIEL. 1996, «The dielectric properties of biological tissues : Ill. measurements in the frequency range 10 hz to 20 ghz», *Physics in medicine and biology*, vol. 41, n° 11, p. 2251.
- [39] GABRIEL, S., R. LAU et C. GABRIEL. 1996, «The dielectric properties of biological tissues : Ill. parametric models for the dielectric spectrum of tissues», *Physics in medicine and biology*, vol. 41, n° 11, p. 2271.
- [40] GALVANI, L. et G. ALDINI. 1792, *De Viribus Electricitatis In Motu Musculari Comentariorum Cum Joannis Aldini Dissertatione Et Notis ; Accesserunt Epistolae ad animalis electricitatis theoriam pertinentes*, Apud Societatem Typographicam.
- [41] GEDDES, L. 1997, «Historical evolution of circuit models for the electrode-electrolyte interface», *Annals of biomedical engineering*, vol. 25, n° 1, p. 1–14.
- [42] GESTELAND, R., B. HOWLAND, J. LETTVIN et W. PITTS. 1959, «Comments on microelectrodes», *Proceedings of the IRE*, vol. 47, n° 11, p. 1856–1862.
- [43] GHAI, R. S., M. BIKSON et D. M. DURAND. 2000, «Effects of applied electric fields on low-calcium epileptiform activity in the ca1 region of rat hippocampal slices», *Journal of Neurophysiology*, vol. 84, n° 1, p. 274–280.
- [44] GOLD, C., D. A. HENZE, C. KOCH et G. BUZSÁKI. 2006, «On the origin of the extracellular action potential waveform : a modeling study», *Journal of neurophysiology*, vol. 95, n° 5, p. 3113–3128.
- [45] HENRIE, J. A. et R. SHAPLEY. 2005, «Lfp power spectra in v1 cortex : the graded effect of stimulus contrast», *Journal of neurophysiology*, vol. 94, n° 1, p. 479–490.

- [46] HENS, Z. et W. GOMES. 1997, «On the diffusion impedance at semiconductor electrodes», *The Journal of Physical Chemistry B*, vol. 101, n° 30, p. 5814–5821.
- [47] HUBBARD, J. I., R. R. LLINÁS et D. M. QUASTEL. 1969, *Electrophysiological analysis of synaptic transmission*, 19, Williams & Wilkins Company.
- [48] HUTCHEON, B. et Y. YAROM. 2000, «Resonance, oscillation and the intrinsic frequency preferences of neurons», *Trends in Neurosciences*, vol. 23, n° 5, p. 216–222, ISSN 01662236.
- [49] HUTT, A. 2011, *Sleep and Anesthesia : Neural correlates in theory and experiment*, vol. 15, Springer Science & Business Media.
- [50] IZHIKEVICH, E. M. 2001, «Resonate-and-fire neurons», *Neural networks*, vol. 14, n° 6, p. 883–894.
- [51] JASPER, H. H. 1936, «Cortical excitatory state and synchronism in the control of bioelectric autonomous rhythms», dans *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, vol. 4, Cold Spring Harbor Laboratory Press, p. 320–338.
- [52] JOHNSTON, D., S. M.-S. WU et R. GRAY. 1995, *Foundations of cellular neurophysiology*, MIT press Cambridge, MA :.
- [53] KAJIKAWA, Y. et C. E. SCHROEDER. 2011, «How local is the local field potential?», *Neuron*, vol. 72, n° 5, p. 847–858.
- [54] KANDEL, E. R., J. H. SCHWARTZ, T. M. JESSELL et collab.. 2000, *Principles of neural science*, vol. 4, McGraw-Hill New York, 841-842 p..
- [55] KATZNER, S., I. NAUHAUS, A. BENUCCI, V. BONIN, D. L. RINGACH et M. CARANDINI. 2009, «Local Origin of Field Potentials in Visual Cortex», *Neuron*, vol. 61, n° 1, p. 35–41, ISSN 08966273.
- [56] KLEE, M. R., K. OFFENLOCH et J. TIGGES. 1965, «Cross-correlation analysis of electroencephalographic potentials and slow membrane transients», *Science*, vol. 147, n° 3657, p. 519–521.
- [57] KUHN, T. S. 1970, «The structure of scientific revolutions», *Chicago/London*.
- [58] LAMPL, I. et Y. YAROM. 1997, «Subthreshold oscillations and resonant behavior : two manifestations of the same mechanism», *Neuroscience*, vol. 78, n° 2, p. 325–341.
- [59] LANDAU, L. D., J. BELL, M. KEARSLEY, L. PITAEVSKII, E. LIFSHITZ et J. SYKES. 1984, *Electrodynamics of continuous media*, vol. 8, elsevier.
- [60] LI, C.-L. 1963, «Cortical intracellular synaptic potentials in response to thalamic stimulation», *Journal of cellular and comparative physiology*, vol. 61, n° 2, p. 165–179.
- [61] LINDÉN, H., K. H. PETTERSEN et G. T. EINEVOLL. 2010, «Intrinsic dendritic filtering gives low-pass power spectra of local field potentials», *Journal of computational neuroscience*, vol. 29, n° 3, p. 423–444.

- [62] LINDÉN, H., T. TETZLAFF, T. C. POTJANS, K. H. PETTERSEN, S. GRÜN, M. DIESMANN et G. T. EINEVOLL. 2011, «Modeling the spatial reach of the lfp», *Neuron*, vol. 72, n° 5, p. 859–872.
- [63] LLINAS, R. et C. NICHOLSON. 1974, «Analysis of field potentials in the central nervous system», *Handbook of electroencephalography and clinical neurophysiology*, vol. 2, n° Part B, p. 61–85.
- [64] LOGOTHETIS, N. K., C. KAYSER et A. OELTERMANN. 2007, «In vivo measurement of cortical impedance spectrum in monkeys : implications for signal propagation», *Neuron*, vol. 55, n° 5, p. 809–823.
- [65] MAXWELL, J. C. 1881, *A treatise on electricity and magnetism*, vol. 1, Clarendon press.
- [66] MCADAMS, E. et J. JOSSINET. 2000, «Nonlinear transient response of electrode—electrolyte interfaces», *Medical and Biological Engineering and Computing*, vol. 38, n° 4, p. 427–432.
- [67] MCADAMS, E. T. et J. JOSSINET. 1992, «A physical interpretation of schwan's limit current of linearity», *Annals of biomedical engineering*, vol. 20, n° 3, p. 307–319.
- [68] MCCORMICK, D. A., Y. SHU, A. HASENSTAUB, M. SANCHEZ-VIVES, M. BADOUAL et T. BAL. 2003, «Persistent cortical activity : mechanisms of generation and effects on neuronal excitability», *Cerebral Cortex*, vol. 13, n° 11, p. 1219–1231.
- [69] MITZDORF, U. 1985, «Current source-density method and application in cat cerebral cortex : investigation of evoked potentials and eeg phenomena», *Physiological reviews*, vol. 65, n° 1, p. 37–100.
- [70] MORISON, R. et E. DEMPSEY. 1943, «Mechanism of thalamocortical augmentation and repetition.», *American Journal of Physiology*.
- [71] NAUHAUS, I., L. BUSSE, M. CARANDINI et D. L. RINGACH. 2009, «Stimulus contrast modulates functional connectivity in visual cortex», *Nature neuroscience*, vol. 12, n° 1, p. 70–76.
- [72] NELSON, M. J., C. BOSCH, L. VENANCE et P. POUGET. 2013, «Microscale inhomogeneity of brain tissue distorts electrical signal propagation», *The Journal of Neuroscience*, vol. 33, n° 7, p. 2821–2827.
- [73] NELSON, M. J. et P. POUGET. 2010, «Do electrode properties create a problem in interpreting local field potential recordings?», *Journal of neurophysiology*, vol. 103, n° 5, p. 2315–2317.
- [74] NICHOLSON, C. et J. A. FREEMAN. 1975, «Theory of current source-density analysis and determination of conductivity tensor for anuran cerebellum», *Journal of Neurophysiology*, vol. 38, n° 2, p. 356–368.
- [75] NICHOLSON, C. et E. SYKOVÁ. 1998, «Extracellular space structure revealed by diffusion analysis», *Trends in neurosciences*, vol. 21, n° 5, p. 207–215.

- [76] LORENTE DE NÓ, R. 1947, «A study of nerve physiology.», *Studies from the Rockefeller institute for medical research. Reprints. Rockefeller Institute for Medical Research*, vol. 131, p. 1.
- [77] NUNEZ, P. L. et R. SRINIVASAN. 2006, *Electric fields of the brain : the neurophysics of EEG*, Oxford university press, 3 p..
- [78] OUATTARA, L. et T. DIACO. 2003, «Etude d'un mécanisme de réaction électrochimique à l'interface métal / électrolyte à l'aide des diagrammes de zones», *Sciences et Médecine*, vol. 02.
- [79] PESARAN, B. 2009, «Uncovering the Mysterious Origins of Local Field Potentials», *Neuron*, vol. 61, n° 1, p. 1–2, ISSN 08966273.
- [80] PESARAN, B., J. S. PEZARIS, M. SAHANI, P. P. MITRA et R. A. ANDERSEN. 2002, «Temporal structure in neuronal activity during working memory in macaque parietal cortex», *Nature neuroscience*, vol. 5, n° 8, p. 805–811.
- [81] PETERS, A., S. L. PALAY et collab.. 1991, *The fine structure of the nervous system : neurons and their supporting cells*, Oxford University Press, USA.
- [82] PETTERSEN, K. H. et G. T. EINEVOLL. 2008, «Amplitude variability and extracellular low-pass filtering of neuronal spikes», *Biophysical journal*, vol. 94, n° 3, p. 784–802.
- [83] PIKE, F. G., R. S. GODDARD, J. M. SUCKLING, P. GANTER, N. KASTHURI et O. PAULSEN. 2000, «Distinct frequency preferences of different types of rat hippocampal neurones in response to oscillatory input currents», *The Journal of Physiology*, vol. 529, n° 1, p. 205–213.
- [84] PLONSEY, R. 1969, *Bioelectric phenomena*, Wiley Online Library.
- [85] PODS, J., J. SCHÖNKE et P. BASTIAN. 2013, «Electrodiffusion models of neurons and extracellular space using the poisson-nernst-planck equations—numerical simulation of the intra-and extracellular potential for an axon model», *Biophysical journal*, vol. 105, n° 1, p. 242–254.
- [86] PRITCHARD, W. S. 1992, «The brain in fractal time : 1/f-like power spectrum scaling of the human electroencephalogram», *International Journal of Neuroscience*, vol. 66, n° 1-2, p. 119–129.
- [87] RADMAN, T., Y. SU, J. H. AN, L. C. PARRA et M. BIKSON. 2007, «Spike timing amplifies the effect of electric fields on neurons : implications for endogenous field effects», *The Journal of Neuroscience*, vol. 27, n° 11, p. 3030–3036.
- [88] RALL, W. 1962, «Electrophysiology of a dendritic neuron model», *Biophysical journal*, vol. 2, n° 2 Pt 2, p. 145.
- [89] RALL, W. 1995, *The theoretical foundation of dendritic function : selected papers of Wilfrid Rall with commentaries*, MIT press.
- [90] RANCK, J. B. 1963, «Analysis of specific impedance of rabbit cerebral cortex», *Experimental neurology*, vol. 7, n° 2, p. 153–174.

- [91] RANCK, J. B. 1963, «Specific impedance of rabbit cerebral cortex», *Experimental neurology*, vol. 7, n° 2, p. 144–152.
- [92] ROBINSON, D. A. 1968, «The electrical properties of metal microelectrodes», *Proceedings of the IEEE*, vol. 56, n° 6, p. 1065–1071.
- [93] SANCHEZ-VIVES, M. et D. MCCORMICK. 2000, «Cellular and network mechanisms of rhythmic recurrent activity in neocortex», *Nature neuroscience*, vol. 3, n° 10.
- [94] SCHERBERGER, H., M. R. JARVIS et R. A. ANDERSEN. 2005, «Cortical local field potential encodes movement intentions in the posterior parietal cortex», *Neuron*, vol. 46, n° 2, p. 347–354.
- [95] SCHWAN, H. 1966, «Alternating current electrode polarization», *Biophysik*, vol. 3, n° 2, p. 181–201.
- [96] SCHWAN, H. 1968, «Electrode polarization impedance and measurements in biological materials*», *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 148, n° 1, p. 191–209.
- [97] SHEPHERD, G. M. et collab.. 1998, *The synaptic organization of the brain*, vol. 144, Oxford University Press New York.
- [98] SILVA, L. R., Y. AMITAI et B. W. CONNORS. 1991, «Intrinsic oscillations of neocortex generated by layer 5 pyramidal neurons», *Science*, vol. 251, n° 4992, p. 432–435.
- [99] STERIADE, M., F. AMZICA et D. CONTRERAS. 1996, «Synchronization of fast (30-40 hz) spontaneous cortical rhythms during brain activation», *The Journal of Neuroscience*, vol. 16, n° 1, p. 392–417.
- [100] STERIADE, M., A. NUNEZ et F. AMZICA. 1993, «A novel slow (< 1 hz) oscillation of neocortical neurons in vivo : depolarizing and hyperpolarizing components», *The Journal of Neuroscience*, vol. 13, n° 8, p. 3252–3265.
- [101] STERIADE, M., I. TIMOFEEV et F. GRENIER. 2001, «Natural waking and sleep states : a view from inside neocortical neurons», *Journal of neurophysiology*, vol. 85, n° 5, p. 1969–1985.
- [102] SYKOVÁ, E. et C. NICHOLSON. 2008, «Diffusion in brain extracellular space», *Physiological reviews*, vol. 88, n° 4, p. 1277–1340.
- [103] TCHUMATCHENKO, T. et C. CLOPATH. 2014, «Oscillations emerging from noise-driven steady state in networks with electrical synapses and subthreshold resonance», *Nature communications*, vol. 5.
- [104] WAGNER, T., U. EDEN, J. RUSHMORE, C. J. RUSSO, L. DIPIETRO, F. FREGNI, S. SIMON, S. ROTMAN, N. B. PITSKEL, C. RAMOS-ESTEBANEZ et collab.. 2014, «Impact of brain tissue filtering on neurostimulation fields : A modeling study», *Neuroimage*, vol. 85, p. 1048–1057.
- [105] WANG, C., I. ULBERT, D. L. SCHOMER, K. MARINKOVIC et E. HALGREN. 2005, «Responses of human anterior cingulate cortex microdomains to error detection, conflict monitoring, stimulus-response mapping, familiarity, and orienting», *The Journal of neuroscience*, vol. 25, n° 3, p. 604–613.

- [106] WARBURG, E. 1899, «Ueber das verhalten sogenannter unpolarisirbarer elektroden gegen wechselstrom», *Annalen der Physik*, vol. 303, n° 3, p. 493–499.
- [107] WARBURG, E. 1901, «Ueber die polarisationscapacität des platins», *Annalen der Physik*, vol. 311, n° 9, p. 125–135.
- [108] WATANABE, S., M. KONISHI et O. D. CREUTZFELDT. 1966, «Postsynaptic potentials in the cat's visual cortex following electrical stimulation of afferent pathways», *Exp Brain Res*, vol. 1, n° 3, p. 272–283.
- [109] WILSON, C. J. et P. M. GROVES. 1981, «Spontaneous firing patterns of identified spiny neurons in the rat neostriatum», *Brain research*, vol. 220, n° 1, p. 67–80.
- [110] WOMELSDORF, T., P. FRIES, P. P. MITRA et R. DESIMONE. 2006, «Gamma-band synchronization in visual cortex predicts speed of change detection», *Nature*, vol. 439, n° 7077, p. 733–736.
- [111] XING, D., C.-I. YEH et R. M. SHAPLEY. 2009, «Spatial spread of the local field potential and its laminar variation in visual cortex», *The Journal of Neuroscience*, vol. 29, n° 37, p. 11 540–11 549.
- [112] ZHENG, Y., J. J. LUO, S. HARRIS, A. KENNERLEY, J. BERWICK, S. A. BILLINGS et J. MAYHEW. 2012, «Balanced excitation and inhibition : Model based analysis of local field potentials», *NeuroImage*, vol. 63, n° 1, p. 81–94.

Chapitre 2

Cerebral cortex is electrically equivalent to a diffusive medium

« En ce moment, la physique est de nouveau terriblement confuse. En tout cas, c'est trop difficile pour moi et je voudrais être acteur de cinéma ou quelque chose du même genre et n'avoir jamais entendu parler de physique. »

Wolfgang Pauli, début 1925

Sommaire

Résumé du chapitre	48
2.1 Abstract	49
2.2 Introduction	49
2.3 Materials and Methods	50
2.3.1 Animals	50
2.3.2 <i>In vitro</i> recordings	50
2.3.3 <i>In vivo</i> recordings	51
2.3.4 Analysis	54
2.3.5 Computational models	58
2.4 Results	59
2.4.1 The natural impedance	59
2.4.2 <i>In vitro</i> measurements of the natural impedance	62
2.4.3 Natural impedance <i>in vivo</i>	65
2.4.4 Metal-electrode measurements	66
2.4.5 Possible consequences of these measurements	68
2.5 Discussion	71
2.6 Références	73

Résumé du chapitre

La genèse et la propagation des signaux électriques dans le tissu cérébral dépend de ses propriétés électriques, qui peuvent être simplement résistives ou plus complexes : capacitives ou diffusives. La nature exacte de ces propriétés électriques est cruciale, car des milieux non résistifs imposent nécessairement un filtrage en fréquence aux signaux électriques (Herreras et collab., 2008 ; Buzsáki et collab., 2012), et sont donc susceptibles d'influer sur la localisation des sources. Ces propriétés électriques ont été mesurées à l'aide d'électrodes de métal, ce qui a conduit à la conclusion que le tissu cérébral est essentiellement résistif (Ranck 1963 ; Nicholson, 2005). Toutefois, d'autres approches expérimentales ont révélé une dépendance en fréquence marquée de la conductivité et de la permittivité (Gabriel et al., 1996). Des preuves indirectes en faveur d'un milieu non résistif ont également été obtenues (Bédard et Destexhe, 2009 et 2010), indiquant une dépendance en fréquence similaire.

Afin d'expliquer ces divergences, nous faisons l'hypothèse que ces résultats apparemment contradictoires proviennent de la différence entre les méthodes de mesure utilisées. L'usage d'électrodes de métal représente une interface non physiologique avec le tissu alentour, alors que les neurones interagissent avec le milieu extracellulaire via une interface constituée de couches ioniques. Afin de respecter au maximum ces conditions naturelles, nous avons mesuré l'impédance du tissu en utilisant un neurone comme une source de courant - *via son interface naturelle*. Nous définissons alors l'*impédance naturelle* comme l'impédance du milieu extracellulaire vu par les cellules, qui diffère de l'impédance mesurée par les électrodes de métal traditionnelles. Ceci permet de révéler des propriétés électriques plus complexes que celles perçues par des électrodes de métal, ce qui peut expliquer les divergences susmentionnées.

Deux modèles principaux, l'un résistif et l'autre prenant en compte la diffusion ionique, sont en concurrence pour expliquer les résultats obtenus. Le modèle résistif est incapable de rendre compte de l'impédance mesurée, même avec l'adjonction d'un arbre dendritique, alors que le modèle diffusif correspond de très près aux mesures.

Nous concluons qu'en conditions physiologiques, les courants entrant et sortant des neurones sont susceptibles d'être significativement filtrés par le milieu extracellulaire. Une explication plausible de ce filtrage est l'inhomogénéité microscopique du tissu cérébral, créant des accumulations de charges ioniques et donc une diffusion ionique non négligeable. Cette représentation électrique du milieu extracellulaire peut être utilisée pour déterminer la localisation des sources de courant cérébrales, et dans la modélisation de la propagation des signaux électriques le long des neurones.

Cerebral cortex is electrically equivalent to a diffusive medium

Auteurs : Jean-Marie Gomes¹, Claude Bédard¹, Silvana Valtcheva, Matthew Nelson, Pierre Pouget, Laurent Venance, Thierry Bal et Alain Destexhe.

¹ Co-premiers auteurs.

Remerciements : Travaux financés par le CNRS, l'INSERM, le Collège de France, la Fondation Brou de Laurière, le Ministère de la Recherche, l'ANR (projet Complex-V1), la Communauté Européenne (BrainScales FP7-269921, Magnetorodes FP7-600730 et le Human Brain Project FP7-604102).

Remarque : Au moment de l'impression de ce manuscrit, cet article était soumis pour publication auprès du *Biophysical Journal*.

2.1 Abstract

The electrical properties of extracellular space around neurons are important to understand the genesis of extracellular potentials, as well as for localizing neuronal activity from extracellular recordings. However, the exact nature of these extracellular properties is still uncertain. By using a method to measure the natural impedance of the tissue, using whole-cell patch-clamp recordings *in vivo* and *in vitro*, we find that neural tissue has marked non-ohmic and frequency-filtering properties, consistent with the contribution of ionic diffusion. In contrast, using traditional metal electrodes provides very different results. We also show that the impact of such frequency-filtering properties is possibly important on the genesis of local field potentials, as well as on the cable properties of neurons. These results suggest that source estimation methods, as well as the cable properties of neurons, which all assume ohmic extracellular medium, are not valid in cerebral cortex and must be re-evaluated.

2.2 Introduction

The genesis and propagation of electric signals in brain tissue depend on its electric properties, which can be simply resistive (ohmic) or more complex, such as capacitive, polarizable or diffusive. The exact nature of these electric properties is important, because non-resistive media will necessarily impose frequency-filtering properties to electric signals (Herreras et al., 2008; Buzsáki et al., 2012), and therefore will influence any source localization. These electric properties were measured using metal electrodes, leading to the observation that the brain tissue is essentially resistive (Ranck 1963; Nicholson, 2005; Logothetis et al., 2007). However, another experimental approach revealed marked frequency dependence of conductivity and permittivity (Gabriel et al., 1996). Indirect evidence for non-resistive media were also obtained (Bédard & Destexhe, 2009 and 2010; Dehghani et al., 2010; Nelson et al., 2013), and indicated a marked frequency dependence.

To explain these discrepancies, we hypothesize that the apparently contradictory results are due to the fact that different measurement methods were used. The use of metal electrodes represents a non-physiological interface for interacting with the surrounding tissue, while in reality, neurons interact with the extracellular medium by exchanging ions through membrane ion channels and pumps. To respect as much as possible these natural conditions, we have measured the tissue impedance using a neuron as a current source, thereby respecting the natural interface. We define the *natural impedance* as the impedance of the extracellular medium, as seen by the cell. The natural impedance is different than the electrical impedances measured by metal electrodes, which we refer here as “metal-electrode impedance”. The natural impedance reveals more complex electrical properties than with metal electrodes, which can possibly explain the discrepancies.

Thus, we propose that a more realistic electrical representation of the extracellular medium, as captured by the natural impedance, must be used for instance to determine correct source localization of cerebral electric signals, and to model the propagation of electrical signals in the extracellular space or in dendritic trees.

2.3 Materials and Methods

2.3.1 Animals

Maintenance, surgery and all experiments were performed in accordance with the local animal welfare committees (Center for Interdisciplinary Research in Biology and EU guidelines, directive 2010/63/EU, and regional ethics committee "Ile-de-France Sud" (Certificate 05-003)). Every precaution was taken to minimize stress and the number of animals used in each series of experiments. Some of the *in vitro* and all of the *in vivo* experiments were respectively conducted in juvenile (P_{23–30}) and adult (P_{40–90}) OFA rats (Charles River, L'Arbresle, France). Other *in vitro* experiments were conducted in P_{12–16} Swiss mice bred in the Central CNRS Animal Care at Gif-sur-Yvette (French Agriculture Ministry Authorization : B91-272-105) under the required veterinary and National Ethical Committee supervision. Animals were housed in standard 12 hours light/dark cycles and food and water were available ad libitum.

2.3.2 *In vitro* recordings

Patch-clamp in whole-cell configuration was performed in brain slices of the visual cortex of young mice (P_{12–16}) and consisted of a simultaneous whole-cell patch recording, together with an extracellular recording using a micropipette (Fig. 2.2A). The latter was located within a close vicinity ($\approx 30 \mu m$) of the patched cell. All results were indifferent to the distance between the reference electrode and the patched cells, as potential variations on the extracellular electrode did not exceed 1% of the variations of the intracellular potential.

This configuration enables estimating the extracellular impedance, according to the circuit displayed in Fig. 2.2C. To this end, a white noise current stimulus was injected into the recorded cell and the impedance was calculated based on this current injection. To verify that the same results can be obtained using a different protocol, we also performed

slice experiments using sinusoid current stimuli, at different frequencies.

In vitro whole-cell patch recordings : white noise

Brain slice preparation. 300 μ -thick coronal slices of mouse brain were obtained with a Leica VT 1200S microtome (Leica Biosystems, Wetzlar, Germany). Slices were prepared at 4°C in the following medium (in mM) : choline chloride 110, KCl 2.55, NaH₂PO₄ 1.65, NaHCO₃ 25, dextrose 20, CaCl₂ 0.5, MgCl₂ 7. Slicing started 2 mm from the posterior limit of olfactory bulb, and ended 3.9mm further. Before recordings, slices were incubated at 34°C in artificial cerebro-spinal fluid (ACSF) of the following composition (in mM) : NaCl 126, KCl 3, NaHCO₃ 26, NaH₂PO₄ 1.25, myo-inositol 3, sodium pyruvate 2, L-ascorbate de sodium 0.4 ; dextrose, 10. The slicing and recording solution was bubbled with 95% O₂ and 5% CO₂, for a final pH of 7.4.

Electrophysiological recordings. Borosilicate pipettes (1B150F4, World Precision Instruments, Inc., Sarasota, Florida, U.S.) of 5-8 M Ω impedance were used for whole-cell recordings and contained the intracellular solution (in mM) : Hepes 10, EGTA 1, K-gluconate 135, MgCl₂ 5, CaCl₂ 0.1, with osmolality of 308 mOsm and a pH of 7.24. During recordings, slices were superfused at 1 mL/min with the same ACSF solution that was used for incubation. Bath temperature of the submerged chamber was maintained at 34°C using a TC-344B temperature controller (Warner Instruments Company, Hamden, CT, USA). Neurons were identified with an upright microscope (Axioscope FS, Zeiss, Germany), an infrared camera (C750011, Hamamatsu Photonics, Japan) and an infrared filter. Serial resistance was not compensated for. Cortical neurons (layer V) were recorded in whole-cell current-clamp. The recordings were performed with a Multiclamp 700B amplifier (Axon Instruments Inc., California, U.S.), filtered at 10 kHz with a built-in Bessel filter, and sampled at 25 kHz. Data acquisition and stimulation were performed with a National Instruments BNC 2090 A card, and the software ELPHY (G. Sadoc, CNRS, UNIC, France).

Stimuli. 20 to 120 seconds of Gaussian white noise with zero mean and 100 pA variance was injected (results were similar for 30 and 200 pA variance). For each cell, we injected 15 to 30 times the same sequence of white noise ("frozen noise") and averaged the measured voltages. This enhanced the signal to noise ratio without altering the results. Figure 2.1 shows the very low autocorrelation of the injected currents, being thus a good approximation of white noise.

In vitro whole-cell patch recordings : sine waves

This set of experiments was performed following the methods previously published in Nelson et al., 2008 and 2013.

2.3.3 *In vivo* recordings

In vivo experiments were performed in the somatosensory cortex of anesthetized rats (P₄₀₋₉₀) and consisted of whole-cell patch recordings (Fig. 2.2B). In this case, the reference was a silver wire placed in the contralateral hemisphere. Note that for both *In vivo*

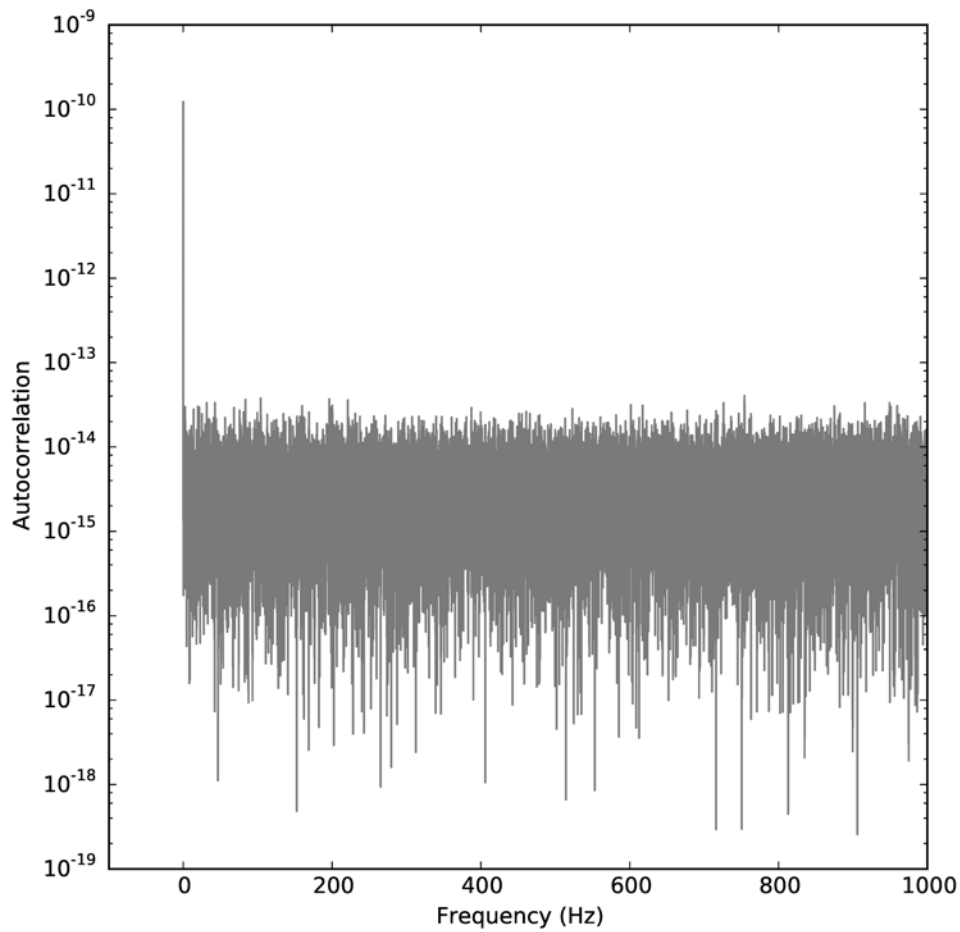


FIGURE 2.1 – Autocorrelation of the injected white noise current in Fourier space. The signal is real so negative frequencies need not being shown because of hermitian symmetry.

and *In vitro* experiments, the reference electrode is passive, just measuring the extracellular voltage, and thus the exact nature of this reference is not critical. Indeed, the same configuration with a silver microwire was also tested *in vitro*, and gave similar results (not shown).

It is important, however, that the reference electrode is placed in brain tissue, so that the estimated extracellular impedance is not influenced by other tissues. Thus, as in the *in vitro* experiments, this intracellular-extracellular configuration enables estimating the extracellular impedance. An important difference is here that the current can flow more freely in 3 dimensions, and is the best approximation of the natural conditions. Another difference is that *in vivo*, the system is not silent but displays prominent spontaneous activity. To limit this contribution, we have considered a “frozen noise” protocol, where identical sequences of white noise stimuli were injected.

Surgical preparation of the animals

Preparation of the animals. Adult rats (P40-90) were placed in a stereotaxic apparatus (Unimecanique, Asnières, France) after anesthesia induction with a 400mg/kg intra-peritoneal injection of chloral hydrate (Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France). A deep anesthesia maintenance was ensured by intra-peritoneal infusion on demand of chloral hydrate delivered with a peristaltic pump set at 60mg/kg/hour turned on one hour after induction. Proper depth of anesthesia was assessed regularly by testing the cardiac rhythm, EcoG activity, the lack of response of mild hindpaw pinch and the lack of vibrissae movement. The electrocardiogram was monitored throughout the experiment and body temperature was maintained at 36.5 °C by a homeothermic blanket.

Craniotomy (surgery). Two craniotomy were performed, one for the insertion of a reference electrode in the somatosensory cerebral cortex (layer2/3) and one to allow the whole-cell recordings in the contralateral cortex (layer 5). For whole-cell recordings, a 2x2 mm craniotomy was made to expose the left posteromedial barrel subfield at the following coordinates : posterior 3.0-3.5 mm from the bregma, lateral 4.0-4.5 mm from the midline. The dura was opened and the craniotomy was filled with low melting point paraffine after each time lowering a recording pipette. To increase recording stability the cistern was drained.

In vivo patch-clamp whole-cell recordings

Borosilicate glass pipettes of 5-8 M Ω impedance contained for blind whole-cell recordings (in mM) : K-gluconate 105, KCl 30, HEPES 10, phosphocreatine 10, ATP-Mg 4, GTP-Na 0.3, EGTA 0.3 (adjusted to pH 7.35 with KOH). Signals were amplified using an EPC10-plus-2 amplifier (HEKA Elektronik). Series resistance was not compensated. Current-clamp recordings were filtered at 2.5 kHz and sampled at 5 kHz and voltage-clamp recordings were filtered at 5 kHz and sampled at 10 kHz using the Patchmaster v2x32 program (HEKA Elektronik). Whole-cell recordings were performed in pyramidal cells of the somatosensory cortex in layer IV/V (depth from the dura : 0.8-1.2 mm). Recorded cells were first identified as pyramidal cells with their characteristics spiking pattern.

Z_{eq} estimation was achieved by applying two protocols of subthreshold current injection :

1. The “frozen noise” protocol consisting in the same template of 20 seconds of a white noise current (repeated 50 times at 0.5 Hz). Sequences in which spikes were eventually induced were discarded.
2. Sinusoidal currents at fixed frequencies ranged from 6 Hz to 926 Hz (similar to those used in *in vitro* experiments). The order of the presentation of the frequencies was randomized.

For the frozen noise and sinusoidal stimuli, the injected currents were tuned for each neurons to evoke voltage response of magnitude ranged between 2 and 6 mV. Note that in some experiments we injected a hyperpolarizing current (never below -150 pA) to prevent suprathreshold activity during application of stimuli.

4-electrodes recordings *in vivo*

In a series of experiments similar to those of Logothetis et al., 2007, we measured the impedance of the cortex using metal electrodes. A setup of 4 aligned platinum-iridium electrodes, was lowered to 1.5 mm in Layer V of rat somatosensory cortex *in vivo* (see experimental procedures above). The distance between contiguous electrodes was 1mm. A floating-ground current generator (AM Systems 2200 stimulus isolation unit, A-M Systems, Inc., Carlsborg, WA) was used to avoid shortcuts. Sine-wave currents were injected using the two outermost electrodes, and the voltage drop was measured using the other two (middle) electrodes. The injected current and the resulting voltage were measured with a National Instruments BNC 2090 A card, and the software ELPHY (G. Sadoc, CNRS, UNIC, France). No compensation was made online. We injected, for each of the following intensities (0.1, 0.5, 1, 2.5, 5, 10, 20 μ A), sine waves of 12 frequencies varying roughly evenly on a log scale from 6 to 1292 Hz. The order of intensities was randomized, and so was the choice of frequencies within a given current intensity. Each sine wave was sent 30 times (at least 30 cycles/sample) and we averaged the measured signals offline.

2.3.4 Analysis

All analyses were performed using Python (Python Software Foundation, Wolfeboro Falls, New Hampshire, USA), the Scipy Stack and Spyder (Pierre Raybaut, The Spyder Development Team).

In vitro and *in vivo* patch-clamp - sine waves experiments

For each frequency and current intensity, the recorded voltages and injected intensities were averaged and fit with sines using the optimize package included in Scipy. The adequation between data and the fitted sine waves was checked by human intervention for every set of data. The voltage and current were represented respectively as $V(t, f) = V_0 \sin(2\pi f t + \phi_v)$ and $I(t, f) = I_0 \sin(2\pi f t + \phi_i)$. The impedance for a given frequency was thus given by $Z(f) = \frac{V_0}{I_0} e^{i(\phi_v - \phi_i)}$.

In vitro and *in vivo* patch-clamp - white noise experiments

Several models were fit to the experiments. First, we used a purely resistive model (Fig. 2.2, bottom left) in which Z_i can be considered zero and Z_e was a small resistance (R_e). The impedance is thus given by :

$$Z_{eq,1}(\omega) = \frac{R_m}{1 + i\omega\tau_m} + R_e \quad (2.1)$$

Second, we combined Z_i and Z_e as a diffusive term. Rather than trying to find an elusive general solution for the usual Nernst-Planck equation (see Pods, 2013), we used a linear approximation for ionic diffusion. The impedance of an electrolyte showing non-negligible ionic diffusion was derived by Warburg (1899, 1901), and yielded a modulus scaling in $1/\sqrt{\omega}$ and a constant phase. Similar derivations were performed in different symmetries by Bisquert et al. (1999) and Bedard et al. (2009, 2011)¹. This impedance has been observed experimentally countless times (see Geddes (1997) for a review), and can be modeled in spherical symmetry by two components scaling the modulus and phase (A and B), and a cutoff frequency $f_W = \omega_W/2\pi$:

$$Z_W(\omega) = \frac{A + iB}{1 + \sqrt{\omega/\omega_W}} \quad (2.2)$$

This leads to the following expression for the equivalent impedance :

$$Z_{eq,2}(\omega) = \frac{R_m}{1 + i\omega\tau_m} + \frac{A + iB}{1 + \sqrt{i\frac{\omega}{\omega_W}}} \quad (2.3)$$

To take into account the fact that some of the current can flow through the dendrites of the cell, we define a dendritic input impedance Z_d (see Fig. 2.2D, right), namely the impedance of the dendritic tree seen by currents leaving the soma. These currents will flow downwards the gradient potential from the intracellular potential (V_{intra}) to the reference ($V_{ref} = 0$). Thus, Z_d is defined by V_{intra}/i_d^g , where i_d^g is the generalized axial current in the dendrite at the level of the soma, and V_{intra} is the intracellular potential at the soma². We then consider separately the resistance and capacitance of the soma (R_s, C_s) and the impedance of the dendrite. The equivalent impedance is then : $Z_{eq,3-4}(\omega) = \frac{Z_d Z_s}{Z_d + Z_s} + Z_i + Z_e$, where $Z_s(\omega) = \frac{R_s}{1 + i\omega\tau_m}$ is the impedance of the soma, where $Z_{eq,3}$ is the impedance for resistive media and $Z_{eq,4}$ for diffusive media. A description of these different models can be found in the next section.

Fitting models with and without dendrites

Two types of models were fit to the experimental measurements, as illustrated in Fig. 2.2C : a single-compartment model, and a model including a dendritic segment. Dendritic filtering has been proposed to explain the frequency-dependence of Local Field Potentials

1. The latter derivation models the impedance of ionic accumulations close to a membrane, by using a first-order approximation of the electric potential generated by ionic species (+ and -) following Boltzmann distributions. In this model, charges “see” each other as they do in solution, taking into account charge shielding in biological electrolytes.

2. Unlike in the standard model, we consider that V_{intra} is not necessarily equal to the V_m because we take the extracellular medium into account.

Model type	Resistive	Diffusive
No dendrite	R_m, C_m, R_e	R_m, C_m, A, B, f_W
Dendrite	R_s, C_s, R_e, l_d	R_s, C_s, A, B, f_W, l_d

TABLEAU 2.1 – Parameters used for the four models. l_d is the length of the dendritic compartment. R_e is the extracellular resistance.

(Pettersen and Einevoll 2008; Lindén et al., 2010); thus, current flowing in the dendrites could be involved in shaping the natural impedance, which would in turn influence the frequency-dependence of local field potentials. We tested this possible influence by considering models that include an equivalent dendritic compartment, which has been shown to be electrically equivalent to a full dendritic tree (Rall, 1962, 1995), leading to a “ball-and-stick” type model (see right circuit in Fig. 2.2C).

Modeling the contribution of dendrites

To model the impedance of the cell including the contribution of dendrites, we use the generalized cable formalism (FO model in Bédard and Destexhe, 2013).

The equivalent impedance of the circuit shown in Fig. 2.2C (right) is given by :

$$Z_{eq}^{3,4}(\omega) = Z_i + \frac{(Z_s + Z_e)Z_d}{Z_s + Z_e + Z_d}, \quad (2.4)$$

where $Z_s = \frac{R_s}{1+i\omega\tau_m}$ is the impedance of the somatic membrane, $Z_{eq}^3(\omega)$ and $Z_{eq}^4(\omega)$ correspond to resistive and diffusive media, respectively. Note that in these models, we have considered $Z_i \approx 0$ (see Fig. 2.2C) because the cytoplasm impedance of the soma is negligible compared to the membrane impedance.

If i_d^g is the current flowing in the dendritic tree, the dendritic impedance (as seen by the soma) is :

$$Z_d = \frac{V_{intra}}{i_d^g} = \frac{V_{intra}}{V_m} \frac{V_m}{i_d^g}. \quad (2.5)$$

Taking into account $V_{intra} = V_m + V_e$, we obtain :

$$\frac{V_{intra}}{V_m} = 1 + \frac{V_e}{V_m} = 1 + \frac{Z_e}{Z_s}$$

because the conservation law for the generalized current implies $V_e = Z_e(i^g - i_d^g)$ and $V_m = Z_s(i^g - i_d^g)$. Note that these equalities would not make sense with the free-charge current, because the variations of V_m may imply charge accumulation around the membrane (dendrite and soma), and thus there is no guarantee of conservation of the free-charge current.

The second part of the fraction represents the input impedance of the dendrite Z_{in} , which is given by :

$$\frac{V_m}{i_d^g} = Z_{in} = \frac{z_i}{\kappa_\lambda} \coth(\kappa_\lambda l_d) \quad (2.6)$$

Thus :

$$Z_d = \left(1 + \frac{Z_e}{Z_s}\right) \frac{z_i}{\kappa_\lambda} \coth(\kappa_\lambda \cdot l_d) \quad (2.7)$$

Note that the values of parameters (κ_λ and $z_e^{(m)}$) in the models considered above correspond to an open-circuit configuration which corresponds to the present experiments; the cable equation for the open-circuit configuration, with an arbitrarily complex extracellular medium, was given in Bédard and Destexhe, 2013.

The intermediate formulas and variables for each model are listed in Table 2.2.

Model type	$Z_i = z_i l_s$	Z_e	$z_e^{(m)}$	κ_λ^2
Standard	$r_i l_s$	negligible	negligible	$\frac{r_i}{r_m} (1 + i\omega\tau_m)$
Diffusive	$\frac{r_i}{(1+i)\sqrt{\omega}} l_s$	$\frac{A+iB}{1+\sqrt{i\omega/\omega_W}}$	$\frac{0.5\tau_m}{2\pi a C_m (1+i)\sqrt{\omega}}$	$\frac{z_i (1+i\omega\tau_m)}{r_m [1 + \frac{z_e^{(m)}}{r_m} (1+i\omega\tau_m)]}$

TABLEAU 2.2 – Intermediate variables. Z_i and Z_e are respectively the intracellular and extracellular impedances, $z_e^{(m)}$ is the input resistance of the extracellular medium seen by the dendrite (in Ω/m), κ_λ is the cable parameter of the system. Constants : r_i and r_e are the linear density of resistance in the cytoplasm and extracellular medium (estimated to 28×10^9 and $18 \times 10^9 \Omega/m$), z_i is the linear density of impedance in the dendrite, l_s and l_d are the length of the soma and dendrite, a is the diameter of the dendrite, τ_m is the time constant of the membrane (~ 10 ms), C_m is the specific membrane capacitance (10^{-2} F/m^2). We also have $r_m = \tau_m / 2\pi a_m C_m$, where $1/r_m$ is the linear density of membrane conductance (S/m).

Analysis of 4-electrodes recordings *in vivo*

Without making any hypothesis on the current lines or electric field in the brain tissue, we computed an apparent impedance, with metal electrodes used to inject current. For each frequency and current intensity, the recorded voltages and injected intensities were averaged and fit with sines (see "Sine waves experiments" previously). The apparent impedance for a given frequency was $Z(f) = \frac{V_0}{I_0} e^{\Phi_v - \Phi_i}$. This is intended to yield information on the frequency scaling of the impedance seen by metal electrodes in the cortex, rather than an absolute value for every frequency. As it has been done classically for this kind of measurements (Gabriel et al., 1996 ; Logothetis et al., 2007), we tried to remove the interface of the measurement system. We thus measured the impedance of the measurement system in ACSF ($Z_0 = |Z_0| e^{\Phi_0}$), and removed this impedance offline from the raw impedance Z_r measured *in vivo* : $Z_{corrected} = \frac{|Z_r|}{|Z_0|} e^{\Phi_r - \Phi_0}$.

For every data point, we computed the standard error of the mean ($Err = \sigma / \sqrt{n}$, where σ is the standard deviation of the sampled points and n is the sample size), as shown in Fig. 2.9 (error bars).

Statistics on population data

Different models call for different sets of parameters. For example, the membrane resistance and capacitance of a resistive model are similar but not identical to their counterparts in a model that features a Warburg impedance (e.g., some of the frequency-filtering

properties can come from this supplementary impedance). Thus, for a single neuron, we allowed membrane resistance and capacitance to differ across models.

In order to determine which model was best to describe experimental data, we used the following classical procedure.

1. For each cell and each model, we computed the residual sum of squares (RSS) between the experimental curves (y_{exp}) and theoretical curves (y_{th}) :

$$RSS_{cell} = \sum_{frequencies} (y_{exp} - y_{th})^2$$

For each cell, we normalized this distance by the distance obtained by the best fit. The distance between experimental and theoretical curves for a given model was thus :

$$RSS_{model} = \sum_{cells} RSS$$

2. We want to compare the RSS across models. A raw comparison would be unfair, as a model with more parameters is more capable of fitting a given data set. Choosing for reference the diffusive model with dendrites (DD), we thus formed for every other model M the null hypothesis : “The model M explains the observed curves. If the model DD has smaller RSS, it is only because it has more parameters than the model M.”

3. We chose $\alpha < 0.05$ as threshold for rejecting H_0 .

4. We used the extra sum of squares F-test, which is able to account for the discrepancy in degrees of freedom across models. We computed the parameter F, following an F-distribution under H_0 :

$$F = \frac{RSS_M - RSS_{DD}}{RSS_{DD}} \frac{DF_{DD}}{DF_M - DF_{DD}}$$

where DF is the degrees of freedom (number of cells - number of parameters) of a given model.

5. The F cumulative distribution function (fcdf) allows us to compute the likelihood of H_0 (Fig. 2.5) :

$$p = 1 - fcd f(F)$$

If $p < \alpha$, we reject the null hypothesis : the diffusive model with dendrites is significantly better than the other model, and this can not be explained by the surplus of parameters alone.

2.3.5 Computational models

Two types of models were used to test possible consequences of the measurements. First, we used a model of the genesis of the extracellular potential. To this end, a current waveform corresponding to the total membrane current generated $I_{AP}(t)$ by an action potential was computed from the Hodgkin-Huxley model in the NEURON simulation environment (Hines and Carnevale, 1997). This current waveform was used as a current

source to calculate the extracellular potential, using a formalism that is valid for any extracellular impedance. We calculated the extracellular potential by using the impedance measurements made in the present paper. According to 2.2, we have :

$$Z_e(\omega) = \frac{A + iB}{1 + \sqrt{i} \omega/\omega_W}, \quad (2.8)$$

where $A = 151 \times 10^6 \Omega$, $B = 2.54 \times 10^6 \Omega$ and $\omega_W = 335 \text{ rad.s}^{-1}$ for a distance of a few μm . The extracellular potential $V(t)$ was calculated using the convolution :

$$V(t) = \int_{-\infty}^{+\infty} \tilde{Z}_e(t - \tau) I_{AP}(\tau) d\tau, \quad (2.9)$$

where $\tilde{Z}_e(t)$ is the inverse Fourier transform of $Z_e(\omega)$.

Second, we simulated a ball-and-stick model using the generalized cable equation (Bedard and Destexhe, 2013). This equation is a generalization of the traditional cable equation of neurons, but allowing the extracellular and intracellular media to have complex electric impedances. A noisy current waveform was injected into the dendrite, and the generalized cable was used to compute the membrane potential in dendrites and in the soma (see details of the methods in Bedard and Destexhe, 2013).

2.4 Results

We start by outlining the measurement paradigm and the notion of natural impedance, then we successively describe the results obtained *in vitro* and *in vivo*, comparing with metal electrodes measurements. Finally, we illustrate consequences of these findings on two fundamental properties, the genesis of extracellular potentials, and the voltage attenuation along neuronal dendrites.

2.4.1 The natural impedance

Here, we explore the hypothesis that the extracellular impedance is fundamentally different if measured in natural conditions where the interface between the neuronal membrane and extracellular medium is respected, compared to metal electrodes, which rely on an artificial metal-medium interface. In natural conditions, the neuronal membrane's interface with the medium involves the opening/closing of ion channels, ionic concentration differences and ionic diffusion, whereas metal electrodes involve a different type of ion exchange with the medium, which consists of a chemical reaction between the metal and the ions in the medium. To measure the impedance in natural conditions, it is therefore necessary to use an intact neuron as the interface with the medium, to respect the correct ionic exchange conditions. To do this, we performed whole-cell patch-clamp recordings, using neurons as natural current sources in the surrounding medium.

This measurement paradigm is illustrated in Fig. 2.2A-B and consists of a whole-cell patch-clamp recording coupled to a micropipette measuring the potential in the extracellular medium close to the recorded neuron, *in vitro* (Fig. 2.2A) or *in vivo* (Fig. 2.2B). In all cases, the recorded neuron is driven by current injection and serves as a natural current source in the medium. In this configuration, relating the signals of the two electrodes

gives a direct access to the extracellular impedance, as shown by the equivalent circuits (Fig. 2.2C).

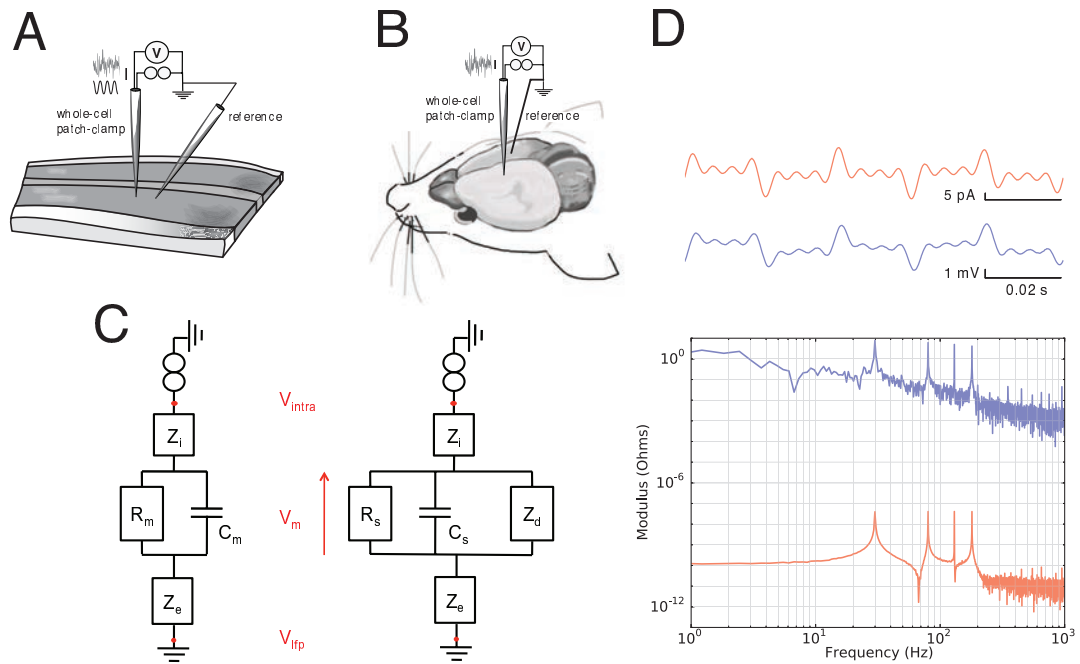


FIGURE 2.2 – Scheme of the experimental setup for measuring the natural impedance. **A-B** : Placement of electrodes *in vitro* and *in vivo*. In each case, a cell is recorded in patch-clamp whole-cell configuration using a micropipette, where the reference electrode is a micropipette located in the extracellular medium at a short distance from the recording (A), or a silver wire in the contralateral hemisphere (B). **C** : Equivalent circuits corresponding to this experimental setup, in two different configurations : the cell is either considered as a single compartment (left), or with dendrites (right), resulting in a slightly more complicated circuit. The membrane is modeled as a RC-circuit, where R_m and C_m are the global membrane resistance and capacitance of the cell (left), respectively, or R_s and C_s are the resistance and capacitance of the somatic membrane (right). Z_i is the macroscopic intracellular impedance (including the electrode-cytosol interface), and Z_e is the macroscopic extracellular impedance. In the resistive models, Z_e is modeled as a simple resistance R_e ; in the diffusive models, it is a function of three parameters (A , B and k , respectively scaling the modulus, phase and cutoff frequency of the diffusive impedance; see Materials and Methods). In the right circuit, Z_d is the equivalent input impedance of the dendritic tree seen by the soma; it is a function of l_d , the equivalent length of the dendritic tree. In both circuits, V_{intra} represents the intracellular potential, and V_{ifp} the potential in extracellular space. **D** : Evidence that the system operates in a linear range. Sine waves of current with four different frequencies were injected simultaneously in a patched neuron *in vivo* (top, in red). The voltage was recorded (top, in blue). The modulus of the Fourier Transform of both signals is shown here, as a function of frequency (Hz) : current in red (A), voltage in blue (V). The frequencies corresponding to the peaks on both signals illustrate the linearity in frequency of the system, which we tested extensively in both time and frequency domains between 1 and 1000 Hz.

According to this equivalent circuit, we have :

$$V_{intra} = Z_{eq} \cdot i^g, \quad (2.10)$$

where i^g is the generalized current injected by the patch-clamp electrode. The use of the generalized current is essential here because it is the only current that is conserved if the

media have arbitrarily complex impedances (Bédard and Destexhe, 2013), and therefore abides to Kirchhoff's current laws in this general case³. By contrast, the conservation of the classic “free-charge current” would apply only with resistive impedances. The previous equation gives, for the left circuit (single-compartment cell) :

$$Z_{eq}(\omega) = Z_i + \frac{R_m}{1 + i\omega\tau_m} + Z_e, \quad (2.11)$$

and for the right circuit (cell consisting of a soma and an equivalent dendrite) :

$$Z_{eq}(\omega) = Z_i + \frac{(Z_s + Z_e)Z_d}{Z_s + Z_e + Z_d}, \quad (2.12)$$

where Z_{eq} is the equivalent impedance of each of the two circuits, Z_i and Z_e are the macroscopic impedances of the cytosol and the extracellular medium, respectively. R_m is the global input resistance of the cell and τ_m is the global membrane time constant (left circuit) ; $Z_s = \frac{R_m}{1 + i\omega\tau_m}$ is the impedance of the soma membrane (right circuit), Z_d is the input impedance of an equivalent dendrite, as seen by the soma, including the extracellular medium surrounding it.

In the standard model, Z_i and Z_e are usually modeled by a lumped and resistive impedance. In the following, Z_{eq} will be called the “natural impedance” of the circuit, because in such a recording configuration the neuron acts as a current source in the brain tissue. It represents the impedance of the system as seen by the intracellular side of the neuron.

Z_e is the impedance of the extracellular medium as seen by the neuron (extracellular component of the natural impedance). We will test here if the latter impedance is negligible or constant, as usually assumed. We will consider resistive and diffusive versions of this impedance and check which one better fits the data.

Z_i includes the impedance of the interface between the tip of the electrode and the intracellular medium. This interface will be different in whole-cell patch or sharp-electrode recording configurations, because of the location and impedance of the pipettes themselves. So, the interpretation of the measured impedances may be different in sharp-electrode and whole-cell recordings, and we indeed have observed such differences (not shown here). In particular, we made sure that the interface of the silver-silver chloride electrodes, used for patching and as a reference, does not contribute significantly to the equivalent impedance : it is negligible compared to other impedances in the circuit and has little frequency dependance between 1 and 1000 Hz (see fig. 2.3).

In order to measure Z_{eq} , we injected a current intracellularly, and measured the intracellular potential V_{intra} with respect to a reference. Ideally, this reference is a micropipette in the extracellular medium (V_{LFP} ; see scheme in Fig. 2.2A). In the *in vivo* experiments, the reference was a silver electrode inserted in the contralateral somatosensory cortex as in Fig. 2.2B. For subthreshold currents, the system can be considered linear in frequency : injecting current at an arbitrary frequency yields voltage variations only at that frequency. This linearity of the system is illustrated in Fig. 2.2D, a combination of four sine-wave currents of fixed frequency generate a sine tension at the same frequencies, showing that the linear approximation is valid : sine waves appear as sharp spikes in the Fourier space, two orders of magnitude above baseline. Thus, there seems to be no significant impact

3. Also note that the current provided by the current generator is also a generalized current because capacitive or non-resistive effects are negligible in modern generators.

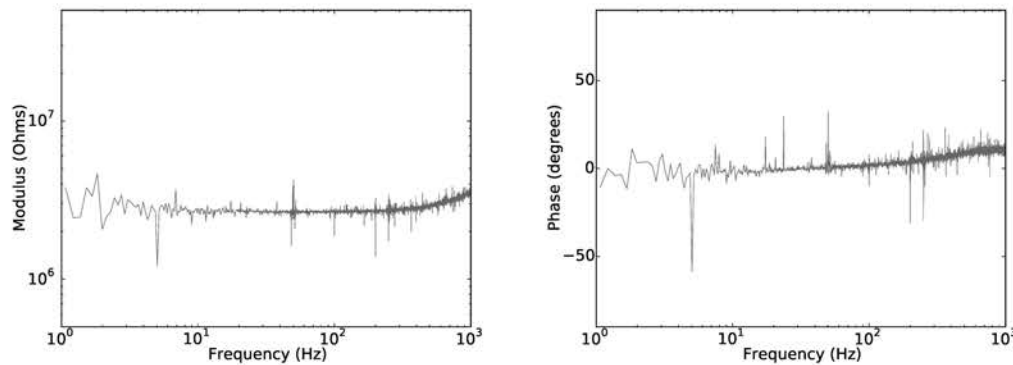


FIGURE 2.3 – Impedance of a silver-silver chloride electrode inserted in a typical ($\approx 3 \text{ M}\Omega$) patch pipette, measured in ACSF. Left : modulus (ohms), right : phase (degrees).

of non-linear membrane ion channels on the recordings. Nevertheless, we discarded for safety any recordings exhibiting action potentials.

We used two protocols of current injection, either injection of a series of sinusoidal currents of different fixed frequency, or injection of a broad-band (white noise) current, with a flat spectrum between 1 and 10^4 Hz. In this case, several instances of the same noisy current trace were injected in the cell (“frozen noise” protocol), which allowed us to take average and increase the signal-to-noise ratio of the measurements. This is particularly useful *in vivo*, to limit the contamination of the measurement by spontaneous synaptic activity, which can be very strong *in vivo*.

2.4.2 *In vitro* measurements of the natural impedance

Measurements were first performed *in vitro* by using an experimental setup consisting of a whole-cell patch-clamp recording of a neuron, together with an extracellular recording in the nearby tissue in the cortical slice (see Fig. 2.4A). Using this recording configuration, we computed the natural impedance (Z_{eq} in Eq. 2.10; see Materials and Methods) by using either white-noise current injection, or injected sinusoidal currents. The results of a representative cell ($N = 31$) is shown in Fig. 2.4B-C. Both the modulus amplitude and Fourier phase of the impedance are represented. The colored curves in Fig. 2.4B-C show the best fits of different models to the experimental data. One can see that the purely resistive model (RC membrane + resistive extracellular medium, blue curves) is unable to capture the data. We read from equation 2.1 that $|Z_{eq}(\omega)|$ scales as $1/\omega$ in the resistive model, which corresponds to a slope of -1, while the experimental modulus yields a slope of -0.5 ± 0.1 (Fig. 2.4D). The resistive model has a phase similar to $\arctan(k\omega)$ with a minimum of about -90 degrees at high frequencies, which contrasts with the -50 degrees observed in the data (Fig. 2.4E).

So frequency dependence is clearly different from that predicted by the RC-circuit membrane model. The best fits of a model taking into account ionic diffusion (Bédard and Destexhe 2011) can account significantly better for most of this frequency dependence in different cells (green curves; see also Fig. 2.5). In particular, the $1/\sqrt{\omega}$ frequency scaling predicted by the diffusive model (equation 2.3), corresponds to the actually observed -0.5 slope of the modulus. The phase modulations can also be remarkably well captured by

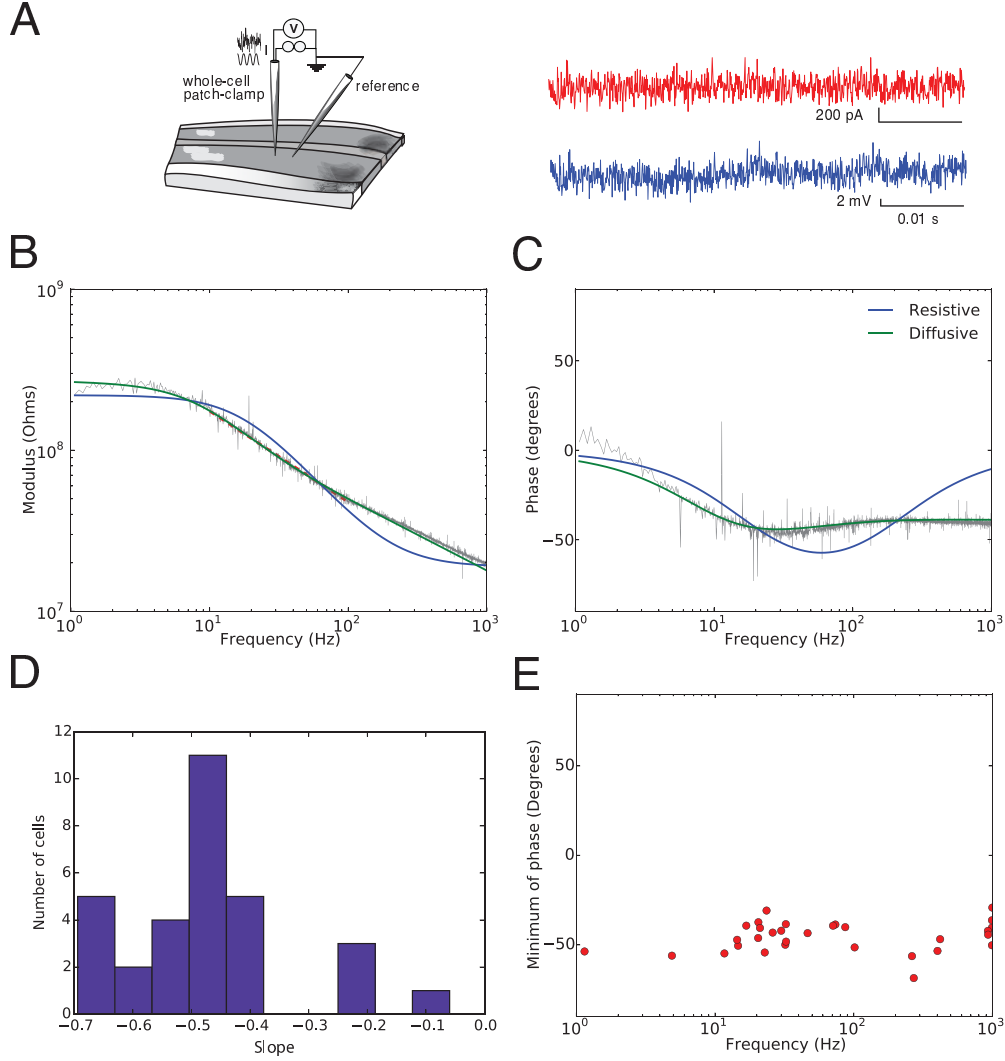


FIGURE 2.4 – Natural impedance of cortical neurons recorded *in vitro* (current clamp). **A** : Scheme of the experimental setup (left) and example signals. A gaussian white noise current signal (red, amplitude : ± 100 pA) was injected repeatedly in patched neurons while recording the intracellular potential (blue). For each 20 seconds period, we computed the impedance as the ratio of measured voltage on injected current ($Z_{mes} = \frac{V_{intra}}{i_{inj}}$) and averaged on 30 periods. Acquisition was performed at 20 kHz. **B** : modulus of Z_{eq} (log scale) represented as a function of frequency ($\log_{10}(f)$), for white noise current injection. **C** : Fourier phase of Z_{eq} , in the same experiment. The different curves shows the best fit of two models to the experimental data (blue : resistive, green : diffusive). **Parameters of the models** : i) Resistive : $R_m = 200\text{M}\Omega$, $C_m = 45\text{ pF}$, $R_e = 19\text{ M}\Omega$; ii) Diffusive : $R_m = 180\text{ M}\Omega$, $C_m = 110\text{ pF}$, $A = 99\text{M}\Omega$, $B = 3.8\text{ M}\Omega$, $f_w = 36\text{ Hz}$. A , B and f_w are parameters of the diffusive impedance scaling respectively its amplitude, phase, and cutoff frequency. **D** : Distribution of the slopes of Z_{eq} fitted between 20 and 200 Hz (linear fit, red dashed lines on the figures). **E** : Coordinates of the minima of the Fourier phases for each cell.

the diffusive model.

We also tested the possible influence of dendrites, by including an equivalent dendritic compartment in the circuit (Fig. 2.2C, right). This addition could not rescue the resistive model, which was still unable to match the observations (Fig. 2.6). In the diffusive model, taking the dendrites in account only enhanced marginally the agreement between

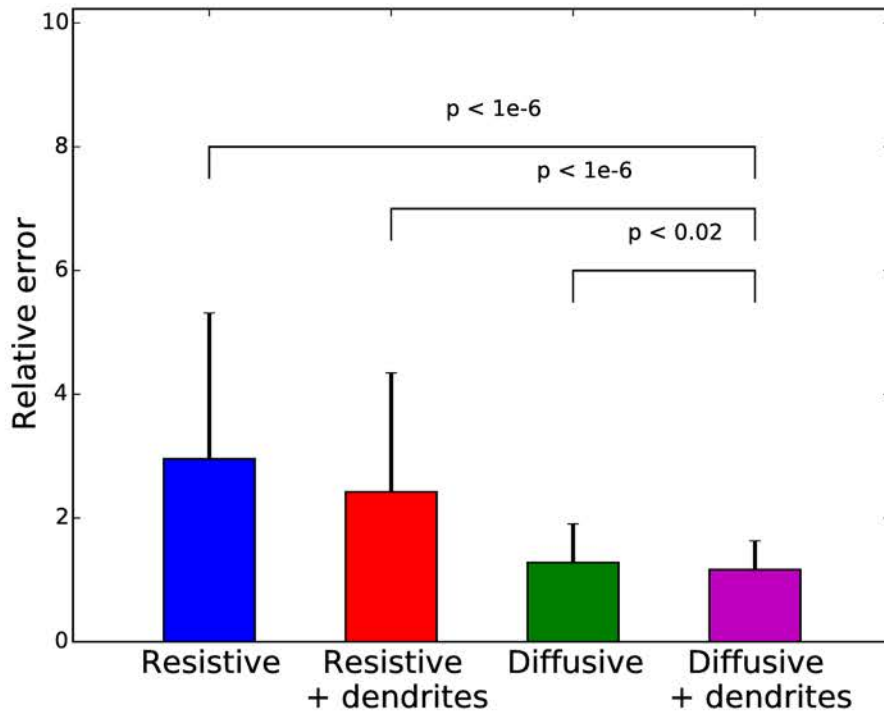


FIGURE 2.5 – Average fitting error of the four models. The figure shows the average goodness of fit for 4 different models investigated : *Resistive*, *Resistive with Dendrite*, *Diffusive*, and *Diffusive with Dendrite*. The error bars are standard deviations of fitting errors. The testing variable used to compare the quality of these fits takes into account their different number of variables. Of all models, the diffusive models give the smallest error in all cases tested. The best fit is provided by the diffusive model with dendrite, although only marginally better than the diffusive model in a single-compartment model.

experimental and theoretical curves. Statistical analysis showed that the improvement in quality from the resistive to the diffusive model was significant, and not only due to a higher number of parameters. Furthermore, the apparent smaller number of parameters in resistive models can come from hidden assumptions, such as homogeneity and low resistivity of the extracellular medium.

These results were replicated using purely sinusoidal input currents (see Fig. 2.7). In addition, we tested a capacitive (RC) model of the extracellular space, but this model was also unable to account for the modulus and the phase modulations (not shown).

We checked whether the quality of seals could affect the natural impedance measurements. Indeed, if the cell membrane is bypassed, the impedance is not measured anymore through the natural interface of a neuron membrane. The average of neurons with good seals ($> 1 \text{ G}\Omega$) yields a slope of -0.5 ± 0.1 (see fig. 2.4D) ; in comparison, cells with extremely poor seals (e.g. $200 \text{ M}\Omega$, not included in the data shown here) yielded a flatter impedance, with a slope between 0 and -0.3. This can be easily understood by replacing Z_m by a resistance in the expression of Z_{eq} .

It is noteworthy that the frequency dependance of the patching pipette and silver-silver chloride electrode is negligible in ACSF (fig. 2.3). Thus, with a negligible silver elec-

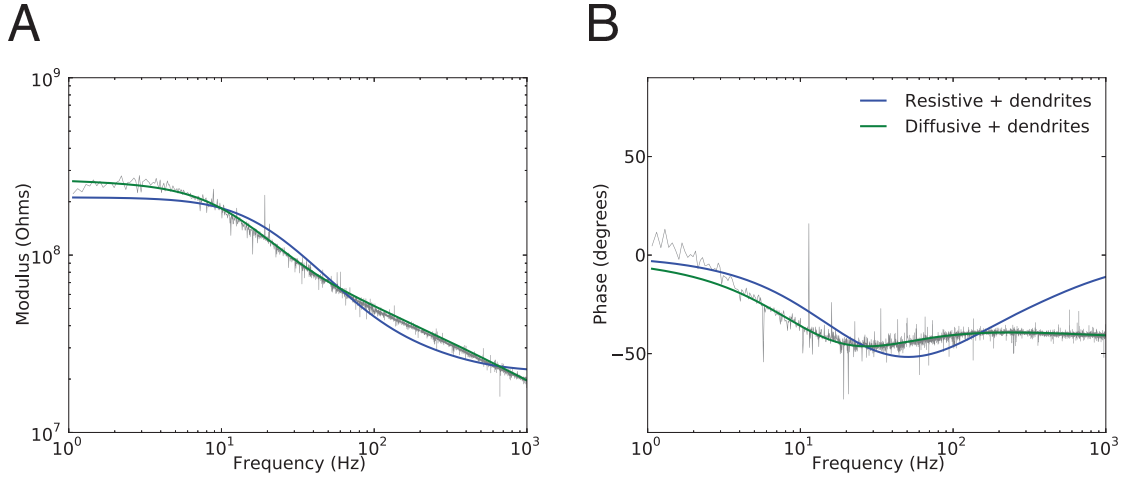


FIGURE 2.6 – Dendritic contribution to the natural impedance of a cortical neuron recorded *in vitro* (current clamp). Same arrangement of panels as fig. 2.4, except that the different curves show the best fit of two models to the experimental data (blue : resistive, green : diffusive), both models included an equivalent dendritic compartment. **Parameters of the models** : i) Resistive : $R_s = 240\text{M}\Omega$, $C_s = 37\text{ pF}$, $R_e = 21\text{ M}\Omega$, $l_{dend} = 390\text{ }\mu\text{m}$; ii) Diffusive : $R_s = 150\text{ M}\Omega$, $C_s = 89\text{ pF}$, $A = 130\text{M}\Omega$, $B = -12\text{ M}\Omega$, $f_w = 30\text{ Hz}$, $l_{dend} = 12\text{ }\mu\text{m}$. A , B and f_w are parameters of the diffusive impedance scaling respectively its amplitude, phase, and cutoff frequency.

trode interface, noticeable frequency dependance is not observed by driving physiological currents through a simple electrolyte, but reflects the complexity of brain tissue properties.

2.4.3 Natural impedance *in vivo*

In a second set of experiments, the measurements were performed *in vivo* with whole-cell patch-clamp recordings (see scheme in Fig. 2.8A and details in Materials and Methods). Similarly to Fig. 2.4, the modulus and phase of the impedance were estimated by white noise current injection (Fig. 2.8B-C). Although the data display a high degree of noise (due to spontaneous synaptic inputs *in vivo*), they were in qualitative agreement with *in vitro* results on $N = 14$ cells. The resistive model was unable to capture the modulus amplitude, nor the phase of the natural impedance of the neuron. The diffusive model was able to capture the essential variations, both in amplitude (modulus) and phase domain. Similar to *in vitro* measurements, the modulus yields a slope of -0.4 ± 0.1 (Fig. 2.8D), and a minimum phase around -50 degrees (Fig. 2.8E), which significantly deviate from predictions of a resistive model.

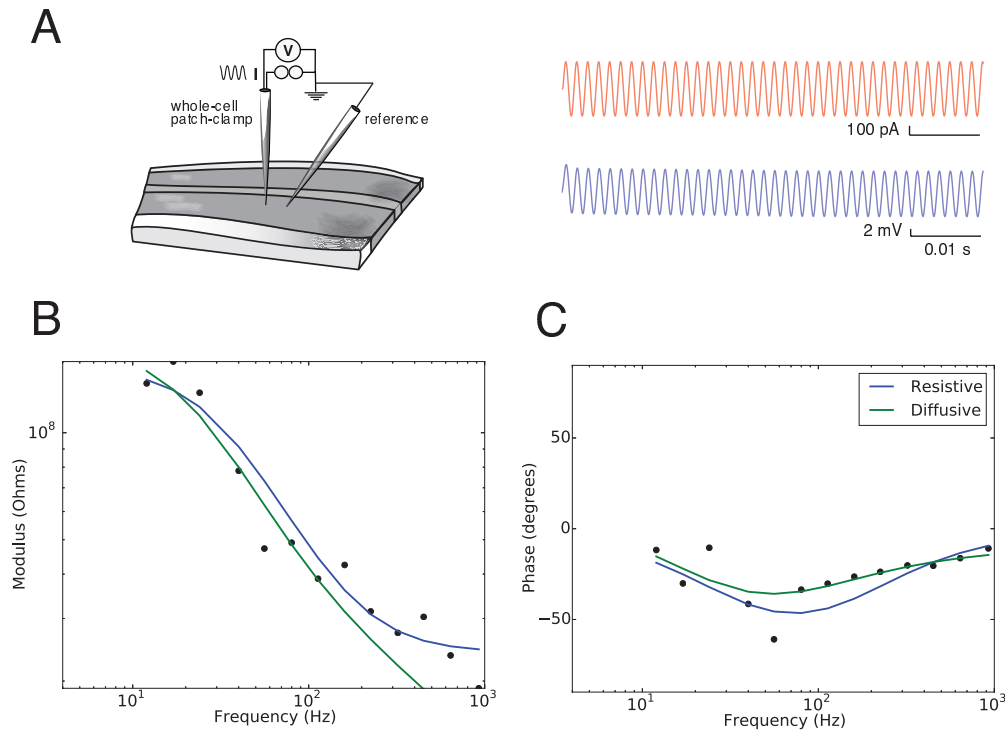


FIGURE 2.7 – Natural impedance measurements of a neuron *in vitro* stimulated with sinusoid inputs. **A** : sine waves of current (top, red; minimum 25 samples and 20 cycles per sample) were injected in patched neurons while recording the intracellular potential (top, in blue; 16.7 kHz sampling). **B** : modulus of Z_{eq} (log scale) represented as a function of frequency ($\log_{10}(f)$), for sine wave current injection (600 pA amplitude). **C** : Fourier phase of Z_{eq} in the same experiment. **Parameters of the models** : i) Resistive : $R_m = 120 \text{ M}\Omega$, $C_m = 46 \text{ pF}$, $R_e = 28 \text{ M}\Omega$; ii) Diffusive : $R_m = 130 \text{ M}\Omega$, $C_m = 59 \text{ pF}$, $A = 58 \text{ M}\Omega$, $B = 43 \text{ M}\Omega$, $f_w = 50 \text{ Hz}$. Representative of $N = 18$ cells.

As in the *in vitro* experiments, the addition of an equivalent dendritic compartment did not improve these differences. The resistive model with dendrites was also unable to account for the measurements, while the diffusive model provided acceptable fits to the data.

2.4.4 Metal-electrode measurements

Next, to compare with previously published measurements with metal electrodes, we have performed impedance measurements using an identical 4-electrode setup as previously published (Logothetis et al., 2007) using the same *in vivo* preparation as above (see scheme of the setup in Fig. 2.9, top ; see details in Materials and Methods). The measurements obtained for the modulus and phase of the impedance appear very different from the natural impedance measurements (Fig. 2.9A-B). Because part of the variations of the impedance may be due to the electrode/aqueous interface, we performed additional measurements on ACSF (data not shown), and renormalized the results accordingly (Fig. 2.9C-D). This is equivalent to the on-line compensation of ionic diffusion made in previous studies (Logothetis et al., 2007). The renormalized impedance shows little fre-

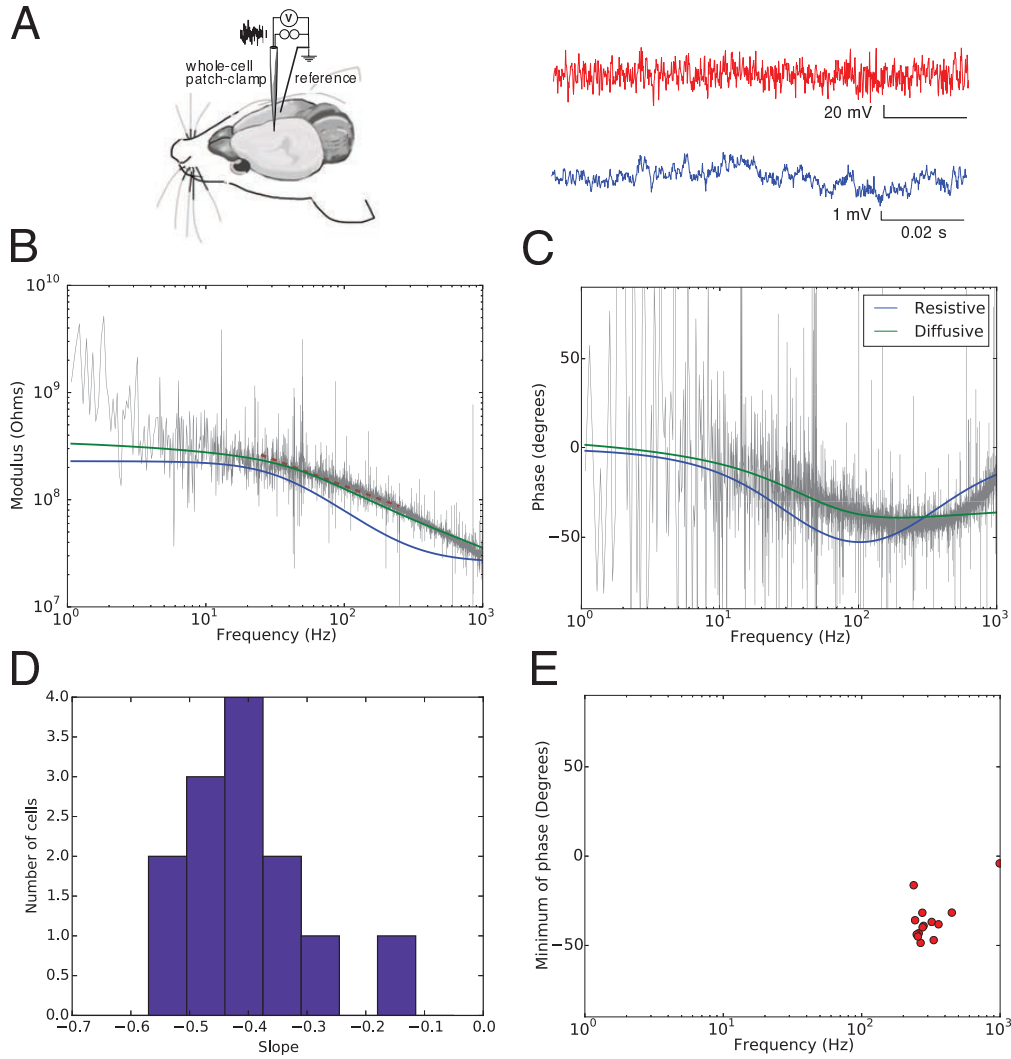


FIGURE 2.8 – Natural impedance of cortical neurons recorded *in vivo*. **A** : Scheme of the recording configuration, with a similar representation as in Fig. 2.4A, but performed in rat somatosensory cortex *in vivo* (with a contralateral reference electrode), using white noise current injection. For these experiments, we injected 20 times the same gaussian white noise current trace (top, in red), recorded at 20 kHz and averaged the intracellular potential (top, in blue). We calculated the impedance seen by the neuron. **B** : Modulus of the impedance obtained, as a function of frequency. **C** : Phase of the impedance. **Parameters of the models** : i) Resistive : $R_m = 230 \text{ M}\Omega$, $C_m = 28 \text{ pF}$, $R_e = 29 \text{ M}\Omega$; ii) Diffusive : $R_m = 100 \text{ M}\Omega$, $C_m = 21 \text{ pF}$, $A = 250 \text{ M}\Omega$, $B = 24 \text{ M}\Omega$, $f_w = 20 \text{ Hz}$ Representative of $N = 14$ cells. **D** : Distribution of the slopes of Z_{eq} fitted between 25 and 250 Hz (linear fit, red dashed lines on the figures). **E** : Coordinates of the minima of the Fourier phases for each cell.

quency dependence between 0 and 300 Hz. In this frequency range, the medium appears closer to a resistor, consistent with previous measurements using metal electrodes (Logothetis et al., 2007).

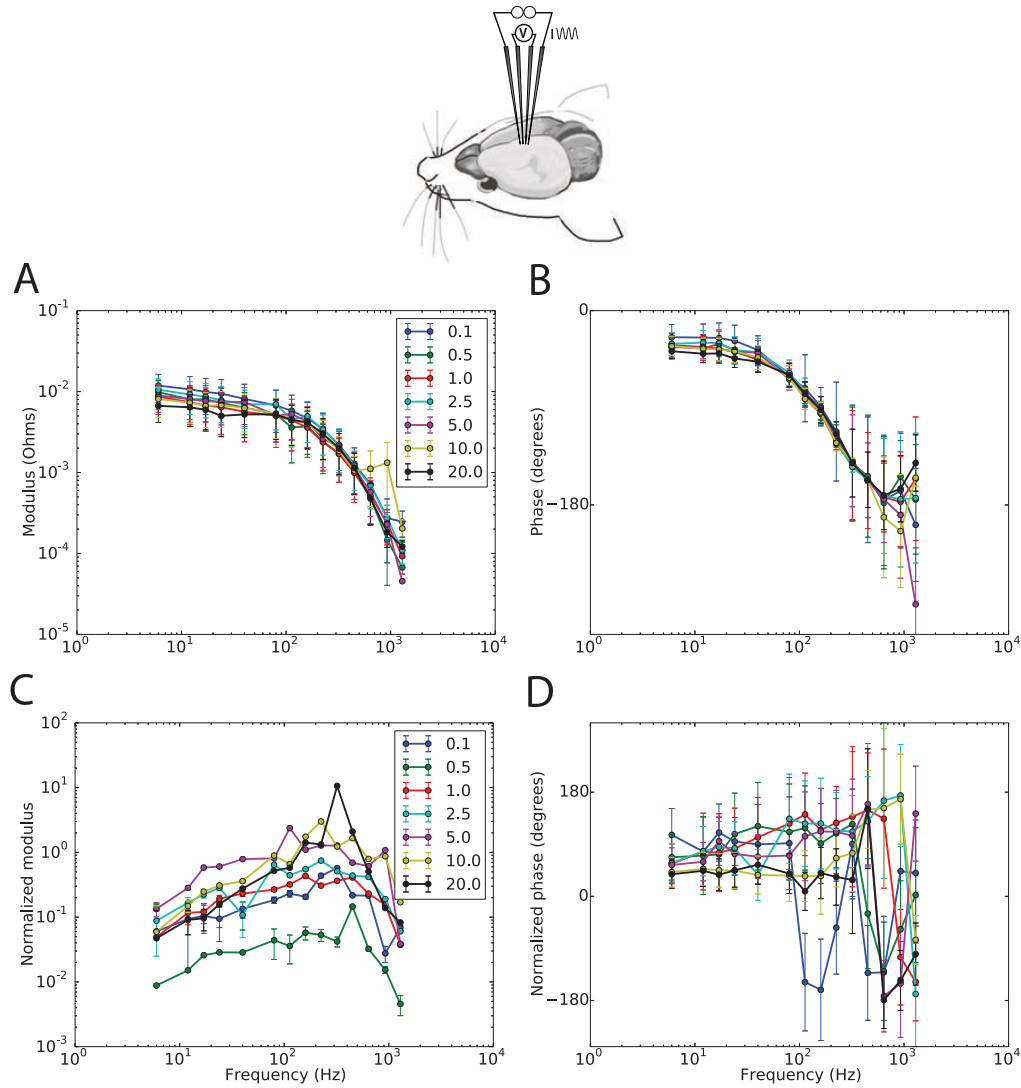


FIGURE 2.9 – Measurement of the cortical impedance *in vivo*, with classical metal electrodes. *Top* : scheme of the recording configuration, where the two extreme electrodes were used to inject current, while the potential difference was measured with the two middle electrodes. All electrodes were inserted at the level of Layer V and sine-wave currents were injected. **A-B** : Modulus (A) and phase (B) of the impedance measured with no compensation. The different colors indicate different amplitudes (in μA) of the injected sine-wave currents. **C-D** : Impedance renormalized by the impedance measured in ACSF. Data is shown as averages of $N = 5$ experiments, error bars indicate the standard error of the mean for each frequency.

2.4.5 Possible consequences of these measurements

Finally, to evaluate possible consequences of these measurements, we have considered two situations where the extracellular impedance can have strong consequences. A first consequence is the fact that the diffusive nature of the medium will necessarily impose frequency filtering properties on extracellular potentials, which affects measurements made with extracellular electrodes. To illustrate this point, we simulated extracellular potentials generated by a current source corresponding to the total membrane current generated by an action potential (using the Hodgkin-Huxley model). We then calculated the extracellular potential at a distance from this current source, using either a resistive

model, or a diffusive model (Fig. 2.10A). Interestingly, one can see that the extracellular signature of the spike has a slower time course in diffusive conditions. A similar situation was also simulated using subthreshold noisy excitatory and inhibitory synaptic activity (Fig. 2.10B). In both cases, the nature of the medium influences the shape and propagation of the local field potential (LFP), for both extracellular spikes and LFP resulting from synaptic activity.

A second possible consequence is on the cable properties of neurons. This point was illustrated by simulating a ball-and-stick model subject to injection of a noisy current waveform in the dendritic cable (Fig. 2.10C). As shown in Fig. 2.10D-E, the attenuation of the voltage along the dendrite can be drastically different in a diffusive medium compared to a resistive medium, as noted previously (Bedard and Destexhe, 2013). Thus, the nature of the medium will also influence the shape and propagation of potentials in dendrites.

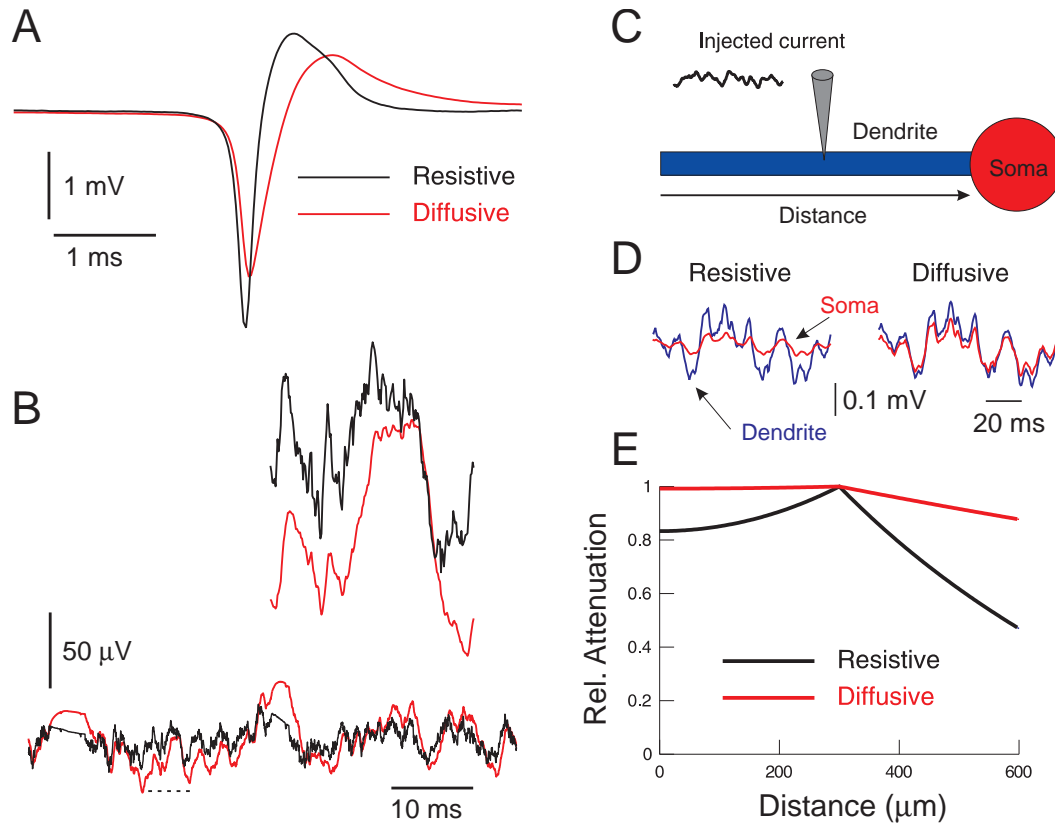


FIGURE 2.10 – Consequences of the diffusive nature of the extracellular medium. **A.** Simulation of LFP in the extracellular medium following injection of current following a spike waveform. The panel compares the extracellular spike obtained for a resistive medium (black), compared to a diffusive medium (red), where the filtering is evident. **B.** Same simulation as in A, but using injection of the combined current of noisy excitatory and inhibitory (subthreshold) inputs. In this case, the LFP obtained in a resistive and diffusive medium are also differentially filtered. **C.** Scheme of a ball-and-stick neuron model where a noisy current waveform was injected in the middle of the dendrite. **D.** Voltage traces obtained in the dendrite (blue; site of injection) and in the soma (red) for resistive (left) and diffusive (right) media. **E.** Relative voltage attenuation profile obtained (at 5Hz) when the neuron is simulated in a resistive (black) or diffusive (red) medium. The diffusive medium results in a markedly reduced voltage attenuation. In all cases, the resistive or diffusive media were simulated using the best fits to the impedances measured *in vitro*.

2.5 Discussion

We have provided here the first experimental support of the natural impedance of the extracellular medium, *in vitro* and *in vivo*, which we compare to the metal-electrode impedance. We found that, not only the natural impedance is higher compared to metal-electrode measurements, but it is also more frequency dependent. The standard model, considering the medium as resistive, can account for metal electrode measurements, but not for natural impedance measurements. In contrast, we found that a diffusive model can account for most measurements, both in modulus amplitude and in phase. We also checked whether the inclusion of dendrites could affect these conclusions, but it did not qualitatively change these results.

The apparent inconsistency with the previous metal-electrode measurements can be resolved by considering that each kind of electrode has a specific interface and impedance, depending on its physical nature (Geddes, 1997). Classical impedance measurement studies tackle this problem offline with a normalization by a measure in saline (Ranck, 1963 ; Gabriel et al., 1996), online by removing the effect of the interface using the saturation due to large currents (Logothetis et al., 2007), or by minimizing the interface (Robinson, 1968 ; Schwan, 1968). In physiological conditions, neurons have an electrical interface with the extracellular medium, as a part of their normal environment. This interface should therefore not be removed when using neurons to evaluate the impedance of the extracellular medium, as it is one of the keys to explaining the electric field produced by an active cell. An hypothetical system without any interface and able to mimic exactly physiological currents would measure an abstract impedance that would be of little practical purpose. If every measurement system has biases, the point of the “natural impedance” measurement is to choose the biases that are closest to natural processes.

The system presented here deals with the usual problems of electrode recordings (see Robinson, 1968) in unusual ways, which shuts down some classical issues but raises new interrogations. First, the electrode - or neuron - must be standardized. Despite biological variability, choosing a given cellular type within a fixed cortical area allows to obtain reproducible measurements. These measurements can be captured with accuracy with a limited number of parameters, most of which are well known (R_m , C_m ...). Second, the spatial scale concerned by potential measurement and current injection is a grey area in the litterature (see Nunez, 2006). We believe that the scale of a single neuron may be as relevant as the tip of traditional recording electrodes, of arbitrary size and position in an inhomogenous medium, which can affect recordings significantly (Nelson, 2013). Third, the interface of the electrode and its behavior must be linear and well understood within the measurement range, which we discussed previously. Provided the system is operated with all necessary precautions, linearity is maintained (fig. 2.2 D) ; the path of the injected currents in neuron compartments does not seem to be a crucial matter (fig. 2.12) and injected currents splitting between different forms (free or bound charges, electric flux...) is not a problem within the generalized current formalism. Furthermore, the traditional 4-electrode setup is designed to separate voltage recording from possible filtering by the interface generated when injecting current (Schwan 1968). In the system presented here, the silver-silver chloride wire has a very resistive interface (fig. 2.3) and is negligible with respect to the main, relevant interface of the recorded neuron.

A possible explanation for the prominent role of ionic diffusion is that when a neuron acts as a current source, the electric field lines might not be adjusted very well to the com-

plex geometry of the extracellular medium. The trajectory of ions would thus be affected by obstacles such as cells and fibers (Nelson et al., 2013), which would yield local variations in ionic concentrations⁴. Ionic diffusion would therefore exert an important force on ions in the extracellular medium. A linear approximation of this phenomenon allows one to model this contribution by a Warburg-type impedance, scaling as $\frac{1}{\sqrt{\omega}}$. In addition, ionic diffusion is involved in membrane potential changes, and participates as well to maintaining the Debye layer surrounding the membrane (Hille, 2001). Taken together, these factors could explain why the present measurements are in such good agreement with the diffusive model.

Our results do not disqualify the previous measurements, but are complementary. We suggest that for all cases where the current sources are generated by natural conditions (i.e., by neurons), the natural impedance should be used. This is the case for example when analyzing the LFP signal, or with Current Source Density (CSD) analysis. In cases where a metal electrode is used to inject current, the metal-electrode impedance would be relevant, for example, in Deep Brain Stimulation paradigms.

Note that, although the diffusive model accounts very well for the modulus and phase variations of the natural impedance, there exists small deviations, in particular at high frequencies. The latter may be due to a number of phenomena, including variability in neuron geometry or limitations of the linear approximations used here. The existence of “shunts” due to the liquid around the electrodes is also not to be excluded. Further studies should be designed to identify the contribution of such factors, e.g. pharmacological inactivation of nonlinear channels. Yet, two arguments heavily advocated in favor of not including all factors at once in our formalism : the strong reproducibility of results across 31 recorded neurons *in vitro*, despite intrinsic biological variability, and the coherence between the diffusive model and experimental data.

Finally, using computational models, we illustrated consequences of the medium non-resistivity on extracellular and intracellular potentials. A number of fundamental theoretical equations used in neuroscience, such as CSD analysis (Mitzdorf, 1985), or neuronal cable equations (Rall, 1962 ; Rall, 1995) were originally derived under the assumption that the extracellular medium is resistive. If the medium is non-resistive, these equations are not valid anymore and must be generalized. Attempts for such generalizations were proposed recently for CSD analysis (Bédard and Destexhe, 2011) and cable equations (Bédard and Destexhe, 2013), but they were not constrained by measurements. The simulations provided here show that including a diffusive impedance based on the present measurements has significant consequences, for both extracellular potentials, and for the electrotonic properties of neurons. The shape of the extracellular spike may be affected by the nature of the medium (Fig. 2.10A), which constitutes another factor that could complicate the identification of neurons from spike shape. The dendritic attenuation is also reduced in the presence of a diffusive medium (Fig. 2.10D-E), as shown previously (Bédard and Destexhe, 2013). Extrapolating these results, it seems that the sources estimated by CSD analysis, or by source estimation methods from the EEG, are likely to be affected by the nature of the medium, and some of the published results using these methods may need to be re-evaluated.

4. In the case of ionic accumulation, the usual free charge current is not conserved, and we had to use the concept of generalized current previously developed (Bédard and Destexhe, 2011) which solves this difficulty.

2.6 Références

- [1] Bédard, C. and Destexhe, A. (2009) Macroscopic models of local field potentials and the apparent $1/f$ noise in brain activity. *Biophys. J.* 96, 2589-2603.
- [2] Bédard, C. and Destexhe, A. (2011). A generalized theory for current-source density analysis in brain tissue. *Physical Review E* 84, 041909.
- [3] Bédard, C. and Destexhe, A. (2013). Generalized cable theory for neurons in complex and heterogeneous media. *Physical Review E* 88, 022709.
- [4] Bédard, C., Rodrigues, S., Roy, N., Contreras, D., and Destexhe A. (2010) Evidence for frequency-dependent extracellular impedance from the transfer function between extracellular and intracellular potentials. *J. Computational Neurosci.* 29, 389-403.
- [5] Bisquert, J., Garcia-Belmonte, G., Fabregat-Santiago, F. and Bueno, P. (1999). Theoretical models for AC impedance of finite diffusion layers exhibiting low frequency dispersion. *J. Electroanalytical Chem.*, 475 152–163.
- [6] Buzsáki, G., Anastassiou, C., and Koch, C. (2012). The origin of extracellular fields and currents : EEG, ECoG, LFP and spikes. *Nature Reviews Neurosci.* 13, 407-420.
- [7] Dehghani, N, Bédard, C., Cash, S.S., Halgren, E. and Destexhe, A. (2010). Comparative power spectral analysis of simultaneous electroencephalographic and magnetoencephalographic recordings in humans suggests non-resistive extracellular media. *J. Computational Neurosci.* 29, 405-421.
- [8] Gabriel, S., Lau, R.W. and Gabriel, C. (1996). The dielectric properties of biological tissues : II. Measurements in the frequency range 10 Hz to 20 GHz. *Phys. Med. Biol.* 41, 2251-2269.
- [9] Geddes, L. (1997). Historical evolution of circuit models for the electrode-electrolyte interface. *Ann. Biomed. Engineering* 25, 1-14.
- [10] Hille, B. (2001) *Ionic Channels of Excitable Membranes*, Sinauer Sunderland, MA.
- [11] Hines ML and Carnevale NT. (1997) The NEURON simulation environment. *Neural Comput.* 9, 1179-1209.
- [12] Lindén, H., Pettersen, K.H. and Einevoll, G.T. (2010). Intrinsic dendritic filtering gives low-pass power spectra of local field potentials. *J. Comput. Neurosci.* 29, 423-444.
- [13] Logothetis N.K., Kayser, C. and Oeltermann, A. (2007). In vivo measurement of cortical impedance spectrum in monkeys : implications for signal propagation. *Neuron* 55 : 809-823.
- [14] Makarova, J., Gomez-Gala, M., and Herreras, O. (2008). Variations in tissue resistivity and in the extension of activated neuron domains shape the voltage signal during spreading depression in the CA1 in vivo. *European Journal of Neuroscience* 27 : 444-456.
- [15] Mitzdorf, U. (1985). Current source-density method and application in cat cerebral cortex : investigation of evoked potentials and EEG phenomena. *Physiol. Reviews* 65, 37-100.

- [16] Nelson, M.J., Pouget, P., Nilsen, E.A., Patten, C.D., & Schall, J.D. (2008). Review of signal distortion through metal microelectrode recording circuits and filters. *J. Neurosci. methods* 169, 141-157.
- [17] Nelson M., Bosch, C., Venance, L., and Pouget, P. (2013). Microscale Inhomogeneity of Brain Tissue Distorts Electrical Signal Propagation. *J. Neurosci.* 33, 3502-3512.
- [18] Nicholson, C. (2005). Factors governing diffusing molecular signals in brain extracellular space. *J. Neural Transm.* 112, 29-44 .
- [19] Pettersen, K.H. and Einevoll, G.T. (2008). Amplitude variability and extracellular low-pass filtering of neuronal spikes. *Biophys J.* 94, 784-802.
- [20] Pods, J., Schoenke, J. and Bastian, P. (2013). Electrodiffusion models of neurons and extracellular space using the poisson-nernst-planck equations - numerical simulation of the intra and extracellular potential for an axon model. *Biophys. J.* 105 242–254.
- [21] Rall, W. (1962). Electrophysiology of a dendritic neuron model. *Biophys J.* 2, 145-167.
- [22] Rall, W. (1995). The theoretical foundations of dendritic function (Cambridge, MA : MIT Press).
- [23] Ranck, J. (1963). Analysis of specific impedance of rabbit cerebral cortex. *Exp. Neurol.* 7, 144-152.
- [24] Schwan, H. (1968). Electrode polarization impedance and measurements in biological materials. *Ann. New York Acad. Sci.* 148, 191–209.
- [25] Robinson, D. (1968). The electrical properties of metal microelectrodes. *Proc. IEEE* 56, 1065–1071.
- [26] Warburg, E. (1899). Ueber das Verhalten sogenannter unpolarisirbarer Elektroden gegen Wechselstrom. *Wied. Ann.* 67, 493-499.
- [27] Warburg, E. (1901). Ueber Die Polarisationskapazität des Platins. *Ann. Phys.* 6, 125-135.

Chapitre 3

Computing local field potentials for neurons in non-resistive media

« Le genre de mécanique proposé par Heisenberg m'a rendu l'espoir et la joie de vivre. Il ne fournit pas, c'est évident, la solution du problème, mais je crois qu'il est à nouveau possible d'avancer. »

Wolfgang Pauli, fin 1925

Sommaire

Résumé du chapitre	76
3.1 Abstract	77
3.2 Introduction	77
3.3 Methods	77
3.4 Results	78
3.4.1 Theoretical model	78
3.4.2 Impedance measurements and evaluation of model parameters . .	81
3.4.3 Numerical simulations of the LFP	83
3.5 Discussion	90
3.6 Appendices	92
3.7 Références	96

Résumé du chapitre

Les potentiels de champs locaux proviennent de l'activité neuronale suscitée par des stimulations synaptiques, sous la forme de courants transmembranaires et de fluctuations de voltage membranaire. Les méthodes actuelles de calcul des LFP supposent toutes que ces événements ont lieu dans un milieu extracellulaire résistif, ce qui est mis en cause dans la littérature (Bédard et collab. 2004, 2010 proposent un modèle diffusif de ce milieu ; Gomes et collab. soutiennent ce modèle expérimentalement). Dans cet article, nous calculons le LFP produit par un neurone dans un milieu plus complexe, grâce aux équations fournies par la théorie du câble généralisé (Bédard et collab. 2013). Les résultats obtenus dans un milieu diffusif sont comparés aux prédictions du modèle classique de Rall dans un milieu résistif.

Les premiers résultats obtenus par ce modèle sont les suivants :

- Comme le confirment des décennies d'observations, les courants transmembranaires contribuent majoritairement à la formation des LFP.
- Il semble que l'activité due aux synapses inhibitrices soit significativement majoritaire dans la formation des LFP, ce qui correspond aux observations de Dehghani et collab. (2014) chez l'Homme.
- À activité identique, le LFP généré dans un milieu résistif est quatre fois moindre que dans un milieu diffusif ; de plus, le spectre des LFP diffère sensiblement en fonction du milieu. En particulier, aux basses fréquences, le modèle diffusif permet de reproduire un spectre en $1/f$ observé *in vivo*, contrairement au modèle résistif.

Des différences aussi marquées entre les prédictions des deux modèles montrent que la nature du milieu, résistive ou non, est cruciale pour l'interprétation des modèles de LFP. Il est donc important de poursuivre les efforts expérimentaux afin de départager les modèles et de délimiter leurs champs d'application respectifs. En particulier, une meilleure compréhension de la magnitude et la dépendance en fréquence des LFP est indispensable pour le développement de méthodes d'évaluation de la densité de source de courant (CSD).

Computing local field potentials for neurons in non-resistive media

Auteurs : Claude Bédard, Jean-Marie Gomes, Thierry Bal et Alain Destexhe.

Remerciements : Travaux financés par le CNRS, l'ANR (projet Complex-V1), la Communauté Européenne (BrainScales FP7-269921, Magnetrodes FP7-600730 et le Human Brain Project FP7-604102).

3.1 Abstract

The local field potential (LFP) is mostly generated by membrane currents in neurons. The currently available methods to calculate LFPs from neuronal morphologies all assume that the extracellular medium is resistive (that is, ohmic). In this letter, we provide a method to calculate LFPs for neuronal morphologies embedded in non-resistive extracellular media. In this case, the classic cable equations are not valid, and a generalized version of cable equations must be used. We provide such a method and illustrate its use to compute the LFP for neurons subject to various profiles of input current in dendrites.

3.2 Introduction

When neurons are active, electrical currents flow through the extracellular space. The entangled electric fields involved strongly depend on the electrical properties of brain medium; when recording LFPs, one sees the reflection of these properties. In the last 20 years, evidence that these properties are frequency-dependent has been accumulated ([8, 20, 24]) and traditional cable formalism initially developed by Rall ([6, 7]) for a resistive medium cannot be used for the prediction of LFPs. We recently introduced a generalized cable model to take into account the complex properties of the extracellular medium ([1–3]). The present paper generalizes the classical approach of Einevoll et al. ([13]), for the ball-and-stick model in a non-resistive medium. Two models of the electrical nature of the medium are compared : a resistive model, and one where ionic diffusion is taken into account, as suggested by the results from [8].

3.3 Methods

In the Results section, we show that Laplace equation ($\nabla^2 V = 0$) provides a good framework to calculate the LFP in non-resistive or non-ohmic media. Several methods exist to solve Laplace equation and the method to use depends on the problem considered. We opt here for a method which separately calculates the current fields produced by excitatory and inhibitory synapses. The advantage of this method is to make explicit the different contribution of each synapse type to the extracellular field (which is possible because their respective contributions are adding linearly). This choice also implies that

the field produced by a neuron is the superposition of two fields, one “excitatory field” and one “inhibitory field”.

All simulations were realized using MATLAB (Mathworks Inc, Natick, MA).

The data shown in figure 3.1 were obtained by the experimental procedures detailed in a previous article [8]. Analysis and plotting for this figure were performed using Python (Python Software Foundation, Wolfeboro Falls, NH, USA), the Scipy Stack and Spyder (Pierre Raybaut, The Spyder Development Team).

3.4 Results

We begin by introducing the theoretical model used to compute the extracellular potential (Section 3.4.1) when the neuron is in subthreshold (spike-free) regime, then we review recent results about the measurement of the extracellular impedance (Section 3.4.1), and finally we show numerical simulations of the LFP computed for neurons in non-resistive extracellular media (Section 3.4.3).

3.4.1 Theoretical model

Approximation to compute the local field potential

It was shown before that the electric behavior of complex extracellular media can be described in a relatively simple way if considered at macroscopic scales [1, 2]. At such scales, one can use a mean-field description of the system, and in such a description, the macroscopic electric parameters, the electric conductivity σ and permittivity ϵ , are independent of spatial position, but must be allowed to depend on frequency. It is through this frequency dependence that the non-resistive or non-ohmic aspect of the extracellular medium appears in the equations (see details in [1, 2]). We will show that in this case, the solution of Laplace equation ($\nabla^2 V = 0$) is a very good approximation for the extracellular potential (if there is no variation of the number of ions due to chemical reactions).

According to Maxwell equations, we have :

$$\nabla \times \vec{H} = \vec{j}^g + \vec{j}^c, \quad (3.1)$$

where $\vec{j}^g = \vec{j}^f + \frac{\partial \vec{D}}{\partial t}$ is the generalized current density and \vec{j}^c is the current density due to chemical reactions [3, 4]. Note that we can also express the generalized current density from the electric field :

$$\vec{j}^g = \vec{j}^f + \frac{\partial \vec{D}}{\partial t} = \sigma * \vec{E} + \epsilon * \frac{\partial \vec{E}}{\partial t} \quad (3.2)$$

where $*$ is the convolution product.

If we assume that \vec{j}^c is zero (when there is no chemical reaction involving changes in ionic concentrations), then we have :

$$\nabla \cdot \vec{j}^g = 0 \quad (3.3)$$

because $\nabla \cdot (\nabla \times \vec{A}) = 0$ for any vectorial field \vec{A} of class C^2 .

Unlike the classic “free-charge” current \vec{j}^f , the generalized current is always conserved in any given volume, even if the extracellular impedance is inhomogeneous or frequency-dependent (with $\vec{j}^c = 0$). It is important to realize that the concept of generalized current is essential here : one cannot treat the case of a membrane in non-resistive media using the free-charge current, because it is not necessarily conserved (Bedard and Destexhe, 2013).

In addition, we have $\nabla \times \vec{E} = 0$ because electromagnetic induction is negligible in neural tissue for low frequencies (typically smaller than 1000 Hz). It follows that $\vec{E} = -\nabla V$, and consequently, V obeys :

$$\nabla \cdot (\sigma + i\omega\epsilon) \nabla V \approx (\sigma + i\omega\epsilon) \nabla^2 V = 0 \quad (3.4)$$

in Fourier frequency space (see Eqs. 3.2,3.3). This is only valid if the electric parameters $\sigma(\vec{x}, \omega) \approx \sigma(\omega)$ and $\epsilon(\vec{x}, \omega) \approx \epsilon(\omega)$ can be assumed independent of spatial position¹. In such conditions, the electric potential can be assumed to be solution of Laplace equation because electric parameters are necessarily non-zero.

Additionally, according to Green's formula ($\iiint_{\mathbb{D}} \nabla \cdot \nabla^2 U - U \nabla^2 V \, dv = \iint_{\partial\mathbb{D}} U \frac{\partial V}{\partial \hat{n}} - V \frac{\partial U}{\partial \hat{n}} \, dS$) and by assuming $U = 1/d$ with $d = \sqrt{(x-x')^2 + (y-y')^2 + (z-z')^2}$ (U is a harmonic function for $d \neq 0$), then we can write for any function of class C^2 inside a given domain \mathbb{D} :

$$V(\vec{x}, \omega) = \frac{1}{4\pi} \iint_{\partial\mathbb{D}} \left[\frac{1}{d} \frac{\partial V}{\partial \hat{n}} - V \frac{\partial(1/d)}{\partial \hat{n}} \right] dS' - \frac{1}{4\pi} \iiint_{\mathbb{D}} \frac{\nabla^2 V}{d} \, dv', \quad (3.5)$$

where $\partial\mathbb{D}$ is the surface of \mathbb{D} and \hat{n} represents the ensemble of vectors perpendicular to $\partial\mathbb{D}$ [5].

If we choose the domain \mathbb{D} such as to represent the extracellular space outside of the neuron (region outside the neuronal membrane up to infinite distance), with a boundary condition of $V = 0$ at infinity, then we can calculate the electric potential using the expression (3.4) :

$$V(\vec{x}, \omega) = \frac{1}{4\pi} \iint_{\partial\mathbb{D}} \left[\frac{1}{d} \frac{\partial V}{\partial \hat{n}} - V \frac{\partial(1/d)}{\partial \hat{n}} \right] dS', \quad (3.6)$$

where $\partial\mathbb{D}$ is now the neuronal membrane (external surface of the neuron).

Note that this approximation is valid only in a medium where $\sigma(\omega)$ and $\epsilon(\omega)$ can be considered constant in space, and therefore cannot be used to calculate the EEG, which requires to consider several spatial domains of different conductivity and permittivity. This is a possible extension that will not be explored in the present paper, where we limit to the LFP assuming that $\sigma(\omega)$ and $\epsilon(\omega)$ are uniform in the neural tissue considered.

Application to the ball-and-stick model

In this section, we apply Eq. (3.6) to the ball-and-stick model, which is one of the simplest possible models of neuron with dendrite. The “ball” represent the soma as an isopotential sphere and the “stick” consists of a cylindrical dendritic cable of constant diameter.

1. Note that if the spatial scale of the mean-field is sufficiently large (tens of microns), then we can consider that the electric parameters are approximately independent of spatial coordinates. It was shown that if these variations are weak, there is very little impact on the extracellular electric potential [9, 10].

As detailed in Appendix 3.6, the extracellular potential of the ball-and-stick model is given by :

$$\begin{aligned} V(P) = & \frac{1}{4\pi} \int_{stick} \frac{i_m}{\gamma} \left[\int_0^{2\pi} \frac{1}{2\pi\sqrt{a^2+\rho^2-2a\rho\cos(\Phi)+(z-z')^2}} d\Phi \right] dz + \frac{i_s^g}{4\pi\gamma} \left[\frac{1}{d_{cs}} - \frac{1}{d_{os}} \frac{S_{os}}{S_{soma}} \right] \dots \\ & + \frac{1}{4\pi} \iint_{stick} (V_m + z_e^{(m)} i_m) \frac{\hat{d} \cdot \hat{n}}{d^2} dS' + (V_m + z_e^{(m)} i_m)_{os} \iint_{S_{os}} \frac{\hat{d} \cdot \hat{n}}{d^2} dS', \end{aligned} \quad (3.7)$$

where (ρ, Φ, z) are cylindrical coordinates. i_m is the generalized transmembrane current (per unit length) in the stick, i_s^g is the generalized transmembrane current at the soma, V_m is the soma membrane potential, $(V_m + z_e^{(m)} i_m)_{os}$ is the value of this function at the junction of the stick with the soma, $1/\gamma$ is the impedance of the extracellular medium (with $\gamma = \sigma + i\omega\epsilon$), $z_e^{(m)}$ is the specific impedance of the extracellular medium, a is the radius of the stick, S_{soma} is the soma membrane area, and S_{os} is the section area of the stick at the soma level. $d_{cs}(P)$ is the distance between the soma center and the position P in the extracellular medium, $d_{os}(P)$ is the distance between P and the soma/stick junction, \hat{d} is a unit vector pointing towards P from the surface of the stick, and \hat{n} is a unit vector perpendicular to the stick membrane.

For large distances compared to the size of the neuron ($\gg a$), this expression simplifies to

$$V(P) = \frac{1}{4\pi\gamma} \int_{stick} \frac{i_m}{d} dz + \frac{i_s^g}{4\pi\gamma} \left[\frac{1}{d_s} - \frac{1}{d_c} \frac{S_{os}}{S_{soma}} \right] \approx \frac{1}{4\pi\gamma} \int_{stick} \frac{i_m}{d} dz + \frac{i_s^g}{4\pi\gamma} \frac{1}{d_s} \quad (3.8)$$

when $S_{os} \ll S_{soma}$.

We see that, in order to calculate this expression, we must evaluate the spatial distribution of the membrane potential V_m and transmembrane current per unit length (i_m) over the stick and the generalized current at the soma (i_s^g). Note that the latter expression does not depend on the spatial distribution of the membrane potential anymore, which is remarkable. Thus, for distances that are large compared to the size of the neuron, effects cannot be resolved due to the spatial localization of the membrane potential.

Finally, we also see that the mathematical link between the extracellular potential and the boundary conditions on the cell surface does not explicitly depend on the physical nature of the medium because the expression (3.3) does not depend on it. However, we also see that the extracellular voltage explicitly depends on the nature of the extracellular medium when it is expressed as a function of i_m , i_s^g and V_m . In the next section, we show how to calculate these three physical quantities.

General method to calculate i_m , i_s^g and V_m

To calculate the variables i_m , i_s^g and V_m , we consider the generalized cable equations [3], which generalizes the classic cable equations of Rall [6, 7] to the general situation where the extracellular medium can have complex or inhomogeneous electrical properties.

Based on the ball-and-stick model, we consider a one-dimensional cylindrical cable of constant radius a . The generalized current at a position x of the cable can be written

as :

$$i_i^g(x, t) = \vec{j}_i^g(x, t) \cdot (\pi a^2 \hat{n}) = -\pi a^2 \gamma_i \frac{\partial V_i}{\partial x}(x, \omega) \quad (3.9)$$

where $\gamma_i = \sigma_i^e(x, \omega) + i\omega\epsilon_i(x, \omega)$ is the cytoplasm admittance, and V_i is the intracellular voltage difference with respect to a given reference (which can be far away). It follows that, using the generalized current, the cable equations can be written in a form similar to the standard cable equation [3] :

$$\lambda^2 \frac{\partial^2 V_m(x, \omega)}{\partial x^2} = \kappa^2 V_m(x, \omega) \quad (3.10)$$

where

$$\begin{cases} \lambda^2 &= \frac{r_m}{\bar{z}_i} \\ \kappa^2 &= 1 + i\omega\tau_m \end{cases}, \quad (3.11)$$

for a cylindrical compartment. Here, the quantity \bar{z}_i is an equivalent impedance, which depends on the model considered. $\bar{z}_i = r_i + r_e$ for the standard cable model SC, $\bar{z}_i = z_i + z_e$ for the frequency-dependent closed-circuit model FC, $\bar{z}_i = z_i / [1 + \frac{z_e^{(m)}}{r_m} (1 + i\omega\tau_m)]$ for the open-circuit FO model, and $\bar{z}_i = z_i [1 + i\omega(\tau_m + \tau_M)] / [(1 + i\omega\tau_m)(1 + i\omega\tau_M)]$ for the NIC (non-ideal capacitor) model. The general solution of this equation in Fourier space, for $\omega \neq 0$, is given by [3] :

$$V_m(x, \omega) = A^+(\omega) e^{\frac{\kappa(l-x)}{\lambda}} + A^-(\omega) e^{-\frac{\kappa(l-x)}{\lambda}} \quad (3.12)$$

for each cylindrical compartment of length l and with constant diameter. For a given frequency, we have a second order differential equation with constant coefficients. The mathematical form of Eqs. (3.9) and (3.11) are identical to that of the standard Rall's cable model, but with different definitions of λ . Thus, we directly see that the nature of the extracellular medium will change the value of these parameters (for FC and FO models), which become frequency dependent. This can affect fundamental properties of the dendrite, such as voltage attenuation, as shown previously [3].

Impedance measurements and evaluation of γ and $z_e^{(m)}$ in the ball-and-stick model

In a recent study [8], the concept of “natural impedance” was introduced and consists of measuring the macroscopic impedance of the extracellular medium as seen by the membrane. The natural impedance was measured using an experimental setup consisting of an intracellular (whole-cell) recording, together with an extracellular micropipette recording in the nearby extracellular space (see details in [8]). The natural impedance was then given in Fourier frequency space by :

$$Z_N = \frac{V_\omega}{I_\omega^g}, \quad (3.13)$$

where V_ω is the soma membrane potential and I_ω^g is the (generalized) current injected by the intracellular electrode.

This measurement revealed that the natural impedance is very different from the resistive (ohmic) medium, often assumed in modeling studies. As illustrated in Fig. 3.1, the

measured impedance seems to be very well approximated by a diffusive (“Warburg”) impedance, in both amplitude and phase domains. The impedance is given by

$$Z = \frac{A + iB}{1 + \sqrt{i \frac{\omega}{\omega_w}}}, \quad (3.14)$$

where typical values are $A = 97 \text{ M}\Omega$, $B = 3.5 \text{ M}\Omega$ and $\omega = 2\pi f = 238 \text{ rad/s}$ ($f \approx 38 \text{ Hz}$; see Fig. 3.1).

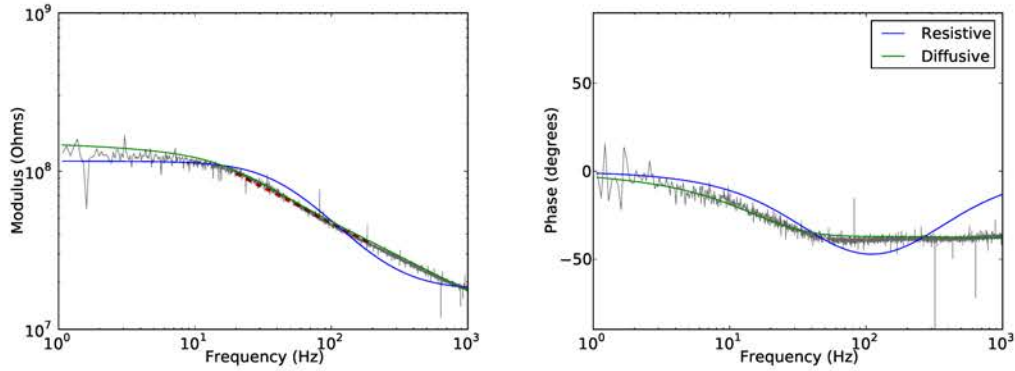


FIGURE 3.1 – Extracellular impedance measured *in vitro*. Natural impedance of cortical neurons recorded *in vitro* (current clamp). A gaussian white noise current signal (amplitude : $\pm 100 \text{ pA}$) was injected repeatedly in patched neurons while recording the intracellular potential. For each 20 seconds period, we computed the impedance as the ratio of measured voltage on injected current ($Z_{mes} = \frac{V_{intra}}{i_{inj}}$) and averaged on 30 periods. Acquisition was performed at 20 kHz. **Left** : modulus of Z_{eq} (log scale) represented as a function of frequency ($\log_{10}(f)$), for white noise current injection. **Right** : Fourier phase of Z_{eq} , in the same experiment. The different curves shows the best fit of two models to the experimental data (blue : resistive, green : diffusive). **Parameters of the models** : i) Resistive : $R_m = 98 \text{ M}\Omega$, $C_m = 38 \text{ pF}$, $R_e = 18 \text{ M}\Omega$; ii) Diffusive : $R_m = 60 \text{ M}\Omega$, $C_m = 130 \text{ pF}$, $A = 97 \text{ M}\Omega$, $B = 3.5 \text{ M}\Omega$, $f_w = 38 \text{ Hz}$. A , B and f_w are parameters of the diffusive impedance scaling respectively its amplitude, phase, and cutoff frequency.

Note that this experiment only used subthreshold input currents, to remain in the domain where the membrane behaves linearly. The intracellular injection of current can be seen as a monopole in an open circuit [8].

Thus, we can approximate the parameters γ and $z_e^{(m)}$. By definition, we have the parameters of the macroscopic impedance, according to the experiments :

$$Z_N = \frac{1}{4\pi\gamma R_s} = \frac{z_e^{(m)}}{4\pi R_s^2}, \quad (3.15)$$

where R_s is the radius of the soma. The second term corresponds to the macroscopic impedance of the medium as seen from the spherical soma. By definition, we also have :

$$Z_N = \frac{V_i - V_m}{i} = \frac{V_e}{i}, \quad (3.16)$$

For example, with a soma radius of $7.5 \mu m$, we have

$$\left\{ \begin{array}{l} \gamma = (1 + \sqrt{i \frac{\omega}{238}})(9.14 \times 10^3 - 3.2 \times 10^2 i) \text{ S/m} \\ z_e^{(m)} = \left(\frac{6.86 \times 10^{-2} + 2.5 \times 10^{-3} i}{1 + \sqrt{i \frac{\omega}{238}}} \right) \Omega \cdot m^2 \end{array} \right. \quad (3.17)$$

Finally, by assuming that $z_e^{(m)}$ has the same value everywhere in the neuron, we can estimate the LFP produced by the ball-and-stick model using Eqs. (3.6,3.10,3.11).

3.4.3 Numerical simulations of the LFP

In this section, we present different simulations to illustrate the LFP generated by excitatory and inhibitory synapses. The goal of this approach is to show the role of each type of synapse on the extracellular field, and do this for a medium with arbitrarily complex electrical properties.

The postsynaptic conductance variations determine a electromotive force ξ such that $\xi = \oint \vec{E} \cdot d\vec{s}$. However, conductance variations are such that we must have at each time $I_E^g = I_S^g$ on the neuron's surface. This defines a dipole (in generalized current), which we can model with two generalized current monopoles.

For all simulations, we will use the experimentally-measured values of γ and $z_e^{(m)}$, as well as parameters $a = 2 \mu m$ and $7.5 \mu m$ at the soma, and a stick length of $600 \mu m$. The membrane time constant τ_m was set to 10 ms, and the sampling frequency was 10 kHz.

Fields triggered by synaptic inputs in different media

Here, we present simulations of the LFP triggered by synaptic inputs on the ball-and-stick model. Inhibitory (gabaergic) synapses are located close to the soma (less than $50 \mu m$), while excitatory synapses are randomly distributed across the stick. This mimics a plausible situation for pyramidal cells in the cortex ([14]). The LFP is given $20 \mu m$ away from the axis of the stick and $100 \mu m$ away from the sealed end of the stick, which corresponds to the “far away recordings” presented above ; five other abscissa randomly chosen on the stick yield very similar results (not shown). Inhibitory and excitatory contributions are computed separately, in order to display clearly their respective contributions. Parameters such as medium resistance or impedance were constrained by experimental fits (see 3.4.1).

Transmembrane currents caused by synaptic activity are represented by multiplying a Heaviside function with a decreasing exponential, occurring randomly in time. The inhibitory and excitatory currents flowing in and out of the neuron are similar in amplitude (see figure 3.2).

Contribution of transmembrane currents to LFPs

The transmembrane currents triggered by synaptic activity correspond to the formation of current sources and current sinks, and thus contribute to the formation of the

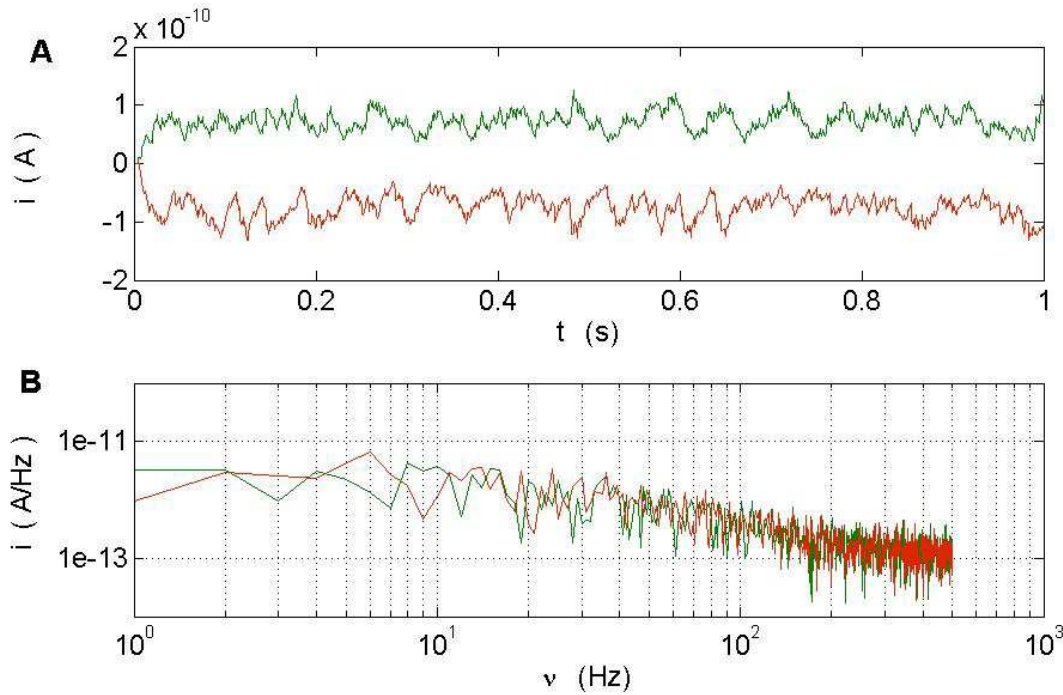


FIGURE 3.2 – Excitatory and inhibitory synaptic currents used in the model. There are 1000 synaptic events per second, the amplitude of which is distributed uniformly between 0 and 150 pA. The relaxation time defining the exponential decay of events is set at 5 ms. **A** : Excitatory (green) and inhibitory (red) currents in the time domain. **B** : frequency scaling of these currents (same colors), shown as the modulus of their Fourier transform between 1 and 500 Hz.

local field potential. In both resistive and diffusive media, the contribution of currents to the LFP is dominated by inhibitory activity, which is about two orders of magnitude above excitatory activity. For the soma, this is to be expected as inhibitory synapses are closer to the soma than their excitatory counterparts (fig. 3.3) ; but it is also verified on the stick (fig. 3.4). The LFP generated by this effect is about three times stronger in a diffusive medium than in a resistive medium (compare top and bottom panels on the figures).

For both somatic and stick currents, the time domain curve of the LFP is clearly smoother in a diffusive medium (fig. 3.3 and 3.4), which indicates sharper high-pass filtering. The PSD can be separated into two main domains by a change in the slope at 20 Hz. Rough figures for these slopes are compared in table 3.1. The frequency scaling is sharper in a diffusive medium in both soma and stick, the difference being more marked in the latter which has different cable properties.

Slope of LFP modulus	Resistive	Diffusive
Somatic contribution	(0, -1.8)	(0, -2.2)
Dendritic contribution	(-0.1, -1.5)	(-0.4, -2.3)

TABLEAU 3.1 – Slopes of the PSD of LFP generated by transmembrane currents in different compartments, in different media. The first value is the slope between 2 and 20 Hz, the other value is computed between 20 and 500 Hz.

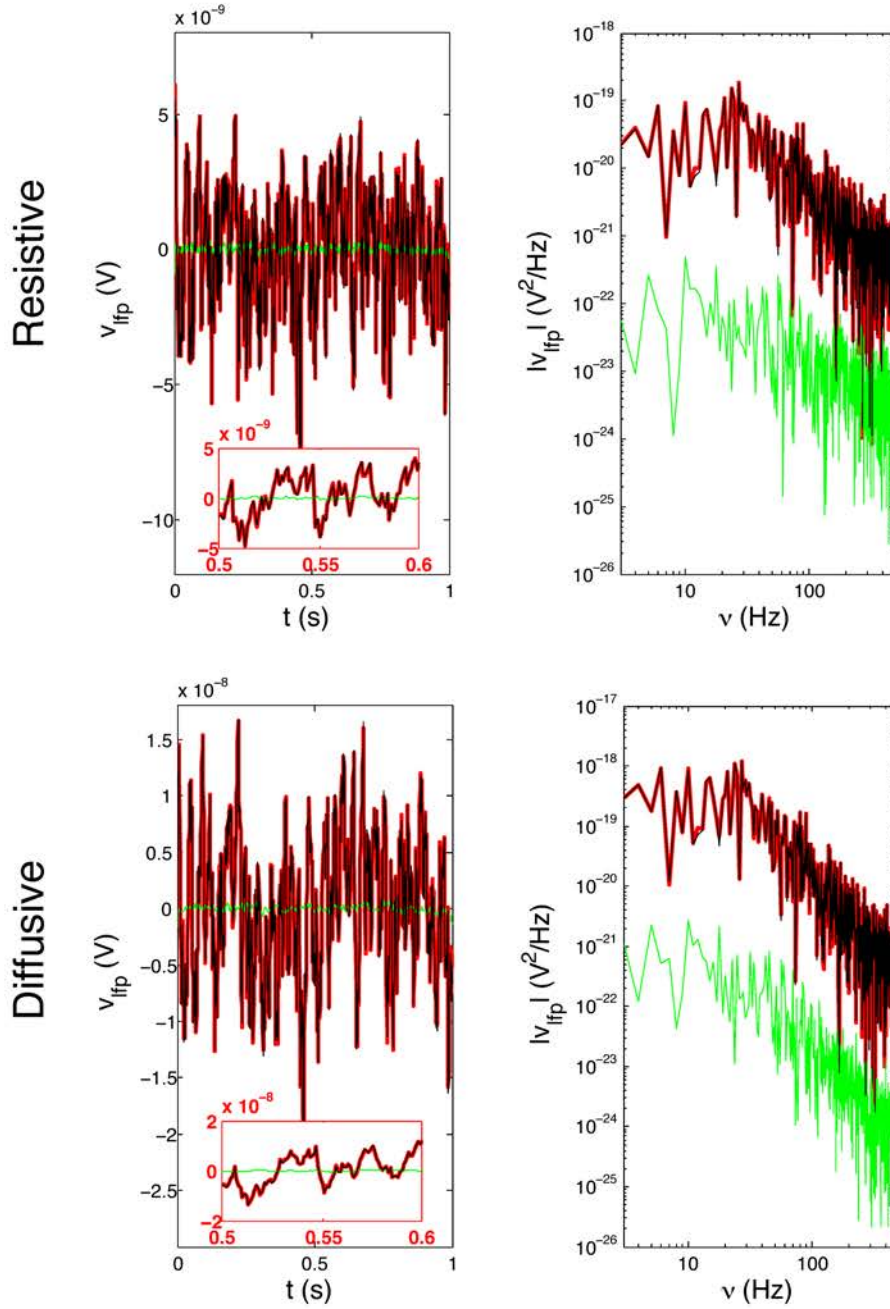


FIGURE 3.3 – Simulation of the LFP generated by transmembrane currents flowing through the somatic membrane. Green and red curves show respectively the contributions of excitatory and inhibitory synaptic currents, black : total resulting LFP. **Left** : time course of the LFP generated by transmembrane somatic currents (time zoom in the inset). **Right** : power spectral density of the LFP. **Top** : resistive medium. **Bottom** : diffusive medium.

Contribution of the transmembrane voltage to the LFPs

The transmembrane voltage difference (or V_m) varies when synaptic inputs are active in the neuron. As fluctuations of an electric field propagate in any medium, this mechanism could influence LFPs significantly. In other words, we evaluated the effect of membranes as current sources above, but they may also behave as voltage sources, thus contributing to the LFP in two different ways.

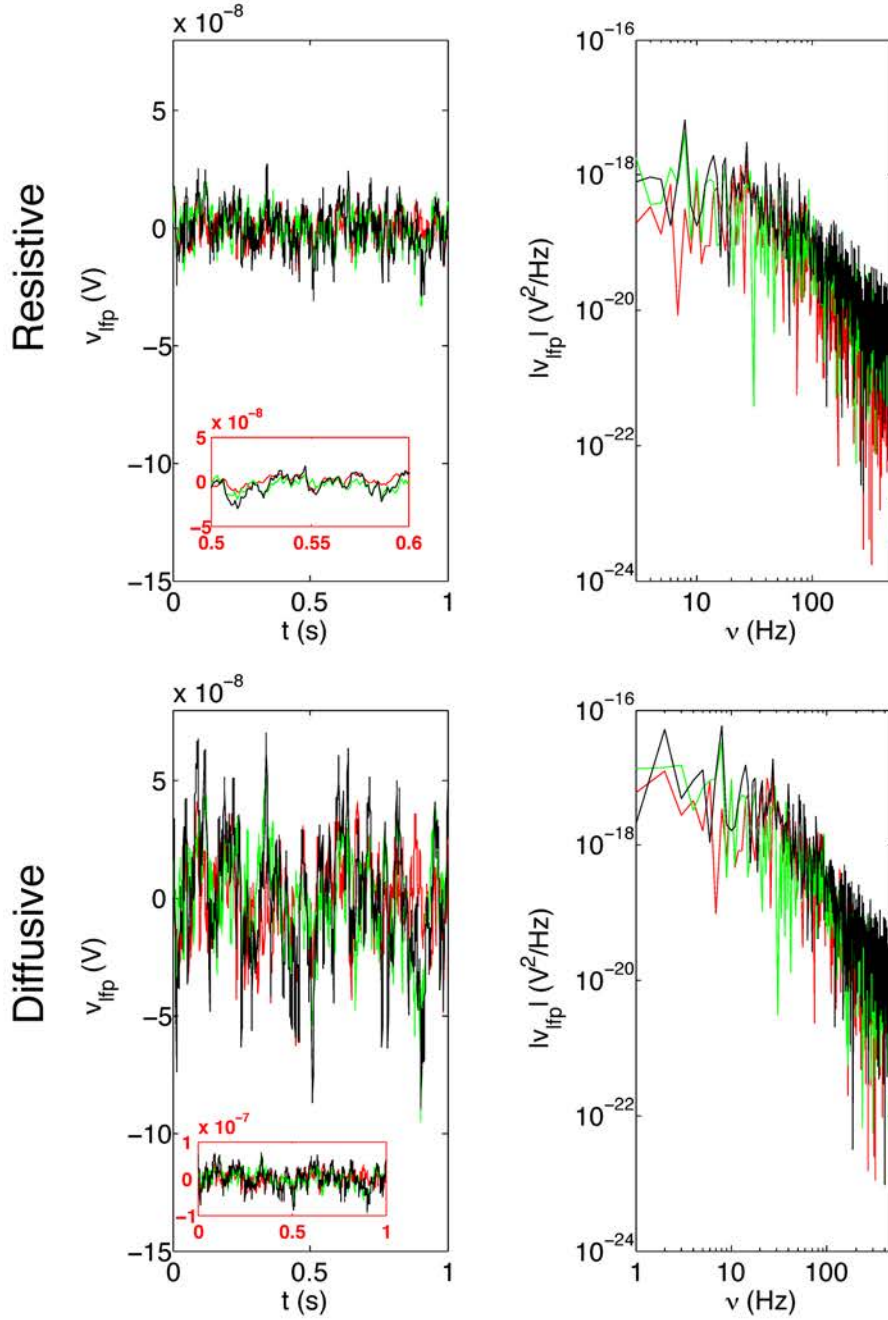


FIGURE 3.4 – Simulation of the LFP generated by transmembrane currents flowing through the membrane of the stick. Green, red : contributions of excitatory and inhibitory synaptic currents, black : total resulting LFP. **Left** : time course of the LFP generated by transmembrane stick currents (time zoom in the inset). **Right** : power spectral density of the LFP. **Top** : resistive medium. **Bottom** : diffusive medium.

Excitation and inhibition seem to contribute similarly to those transmembrane voltage fluctuations - they have the same order of magnitude (fig. 3.5). Finer comparisons should be left to models that are more realistic in terms of synaptic inputs and synapse locations. Yet, these “balanced contributions” are very different from the contribution of transmembrane currents on the LFP, where inhibition is about a hundred times stronger than excitation.

Furthermore, the total amplitude of these fluctuations is roughly 20% less in a diffusive medium than in a resistive medium (see amplitude differences on fig. 3.5).

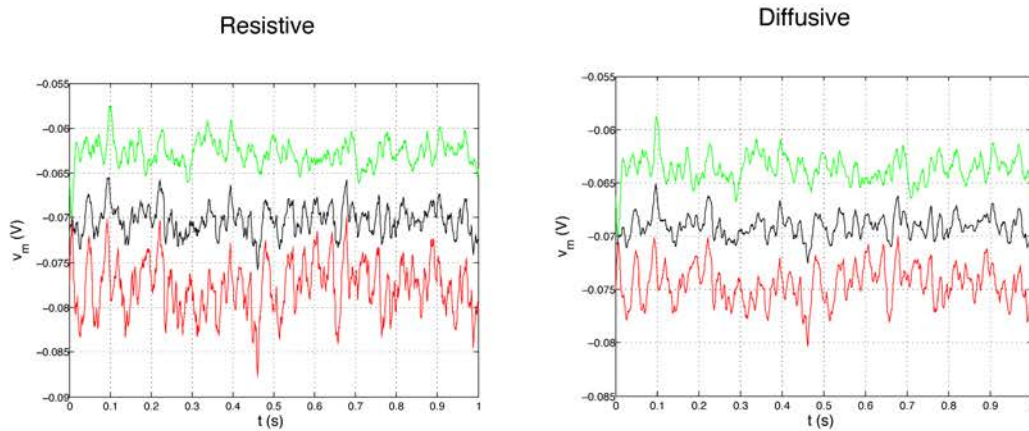


FIGURE 3.5 – Somatic transmembrane voltage fluctuations in different media. These fluctuations result from the simulated synaptic currents. Green, red : separated contributions of excitatory and inhibitory synapses ; black : resulting V_m . **Left** : in a resistive medium. **Right** : in a diffusive medium.

Overall LFP in different media

Relative contributions of the soma and stick. The overall LFP is the sum of two effects influencing the extracellular field : transmembrane voltage and transmembrane currents. The main contribution to the LFP - about 90% - comes from the processes (compare blue vs magenta in figure 3.6), the soma being a minor contributor. This is coherent with decades of theories and experiments about LFP (for a review, see [16]).

Influence of the medium on LFPs. In a resistive medium, the LFP a few dozen micrometers away from the neuron has an average amplitude of about two nanovolts (fig. 3.7, left inset). If we take into account our previous measurements of the extracellular impedance (“diffusive medium”), the LFP at the same point for the same currents is increased three fold (same figure).

The power spectral density has slopes of -0.5 below and -2.5 above 20 Hz in a diffusive medium ; this frequency dependence is flat in a resistive medium below 20 Hz (0.0), and equivalent above 20 Hz with a slope of -2.5 (fig. 3.7).

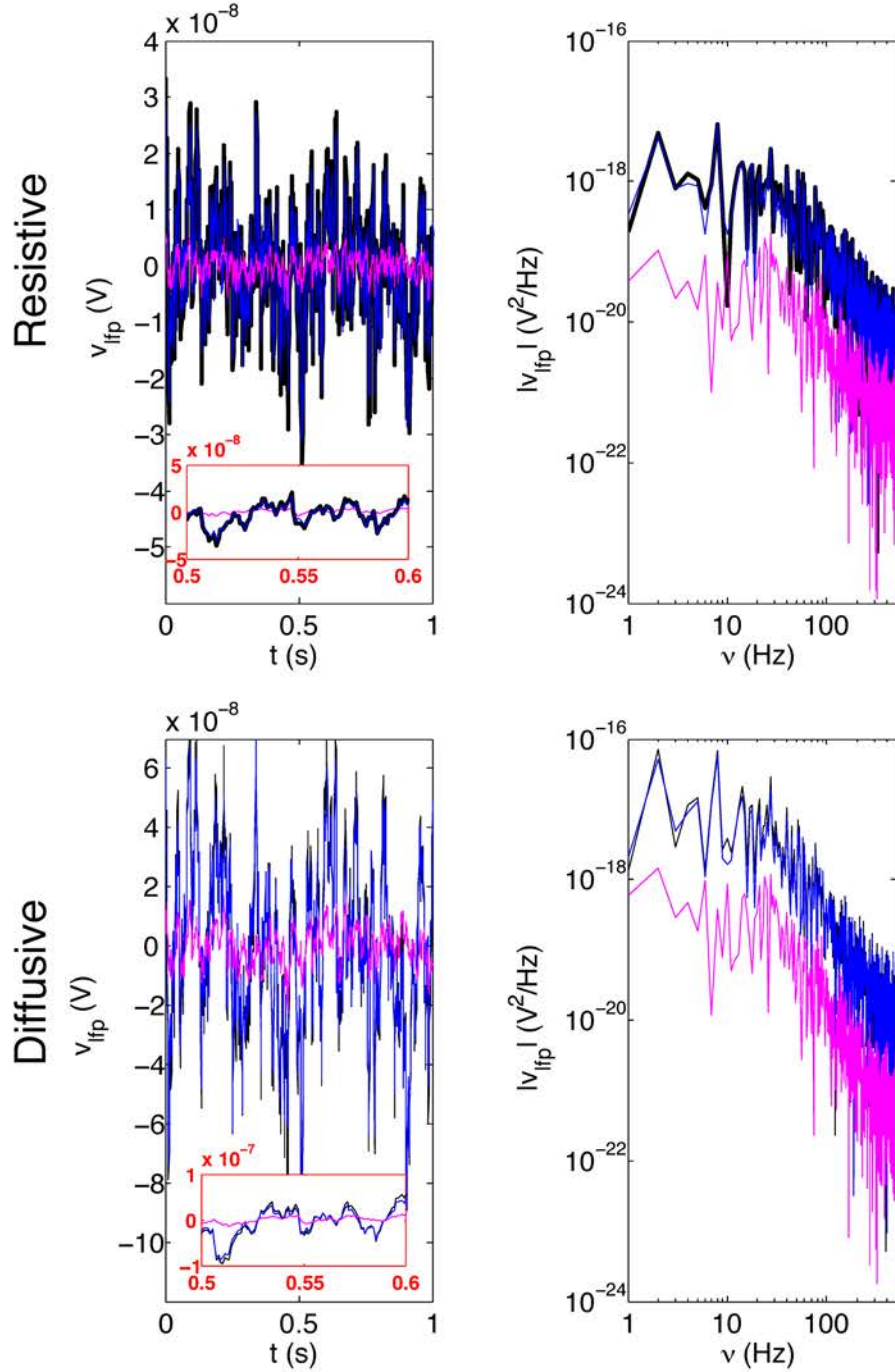


FIGURE 3.6 – Total LFP triggered by synaptic activity in different media. Magenta, blue, black : respective contributions to the LFP of the soma, stick, and sum of both. **Top** : resistive medium, **Bottom** : diffusive medium. **Left**, time course of the LFP triggered by a given synaptic activity; **Right**, power spectral density of partials and total LFPs.

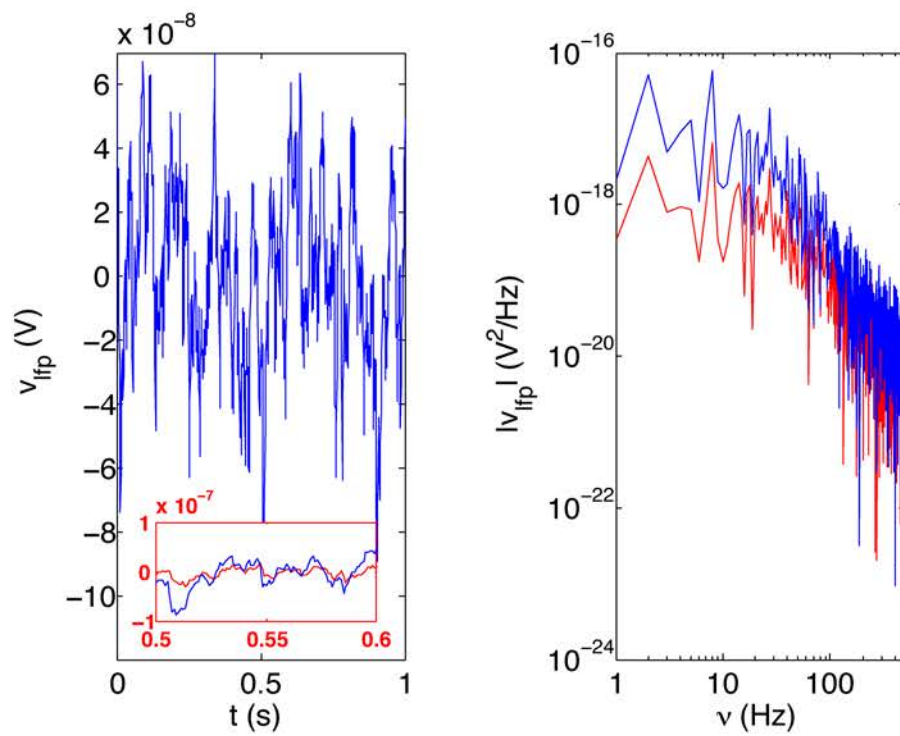


FIGURE 3.7 – Total LFP triggered by synaptic activity in different media. Blue, red : respectively resistive and diffusive medium. **Left**, time course of the LFP triggered by a given synaptic activity; **Right**, power spectral density of the LFP.

3.5 Discussion

Here, we recapitulate the main results obtained by simulating LFPs in different media and outline the implications that it could have for future modeling and experiments.

A first main finding is that, for the same synaptic inputs, the LFP generated by a ball-and-stick neuron will be three times stronger in a diffusive medium than in a resistive medium. This is coherent with the higher impedance of this medium, if we consider very roughly that it matches the same current with a steeper voltage gradient. Such an important difference between both predictions should be testable experimentally.

We also found that, as expected, far away from the neuron, the stronger contributions to the LFP generated by a ball-and-stick neuron come from the transmembrane currents flowing inwards and outwards of the dendritic tree. Less expected, we found that the membrane potential fluctuations and somatic currents also contribute to the LFP. The electrical nature of the medium seems to have a relatively moderate effect (about 20 %) on the fluctuations of the V_m themselves. Yet the influence of these fluctuations on the extracellular potential could be much stronger in a high impedance medium, contrary to predictions in the small-resistance traditional model of the medium; this will be included in the definitive version of this paper. Intuitively, we can reason that currents should be attenuated much faster as they propagate in a medium with high impedance (such as the diffusive one); on the contrary, voltage gradients would dissipate over much larger distances. As a consequence, in a diffusive medium, neural activity could contribute to the LFP by two different mechanisms : current sources and voltage sources. Last minute preliminary results seem to back this hypothesis (not shown).

It is clear that different media give rise to different PSDs of the LFP. Yet, the contribution of possible “voltage sources” to this scaling is still being implemented in the model. Thus, conclusions should only be drawn with great caution concerning frequency dependence of the LFPs (especially on the diffusive medium), at the moment.

Similarly, resonances on the low-frequency band in a diffusive medium were predicted by previous articles [3] but it is too soon to draw conclusions from the few simulations we have performed so far.

We would like to emphasize that these findings have been obtained from a very simplified model. Having the same number of excitatory and inhibitory synapses is a strong oversimplification. Yet, it provides a rough estimation of how the cable properties of the neuron amplifies synaptic inputs that are statistically located at different places (close to the soma for inhibitory synapses; farther away for excitatory synapses).

Finally, one important result is that our model predicts that the contribution of the somatic compartment to LFPs mainly results from the activity elicited by inhibitory synapses. Conversely, the LFPs generated by the dendritic tree are the result of a much more balanced mix between activities due to both types of synapses. Interestingly, in preliminary experimental results obtained with human subjects, LFPs are also dominated by inhibition ([15]).

In conclusion, we investigated the differences in LFP production between resistive and diffusive media, using an extension of the generalized cable formalism previously developed (Bédard and Destexhe, 2013). Strong differences exist between the predictions of two alternative models, resistive or diffusive. More detailed models and new experiments

need to be done to distinguish between the two alternative models. Being able to choose between those models is crucial for example in current source density (CSD) evaluation : if the LFP is three times stronger than expected, the error on the estimated source location can be huge. Furthermore, the generalized cable formalism predicts resonances below 50 Hz in diffusive media (Bédard and Destexhe, 2013), which should also be investigated in more depth and possibly tested experimentally.

3.6 Appendices

Calculation of the extracellular potential for the ball-and-stick model

In this appendix, we give the explicit calculation of the extracellular potential for a ball-and-stick model embedded in an extracellular medium where the electric conductivity σ and permittivity ϵ are spatially uniform but are allowed to depend on frequency.

Solution as a function of the variables of the generalized cable theory, for the ball-and-stick model.

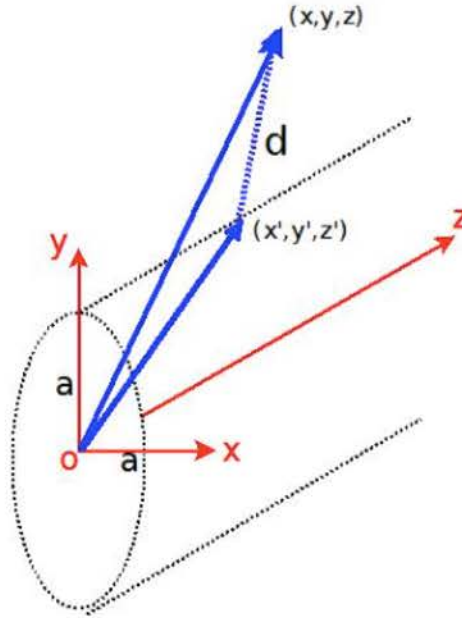


FIGURE 3.6.1 – Illustration of coordinates and variables on the stick and in the extracellular space. The origin is chosen at the distal extremity of the stick.

In the following, we express the equation (3.6) differently by using variables from the generalized cable with the ball-and-stick model. We deal separately with the first and second terms on the right-side of equation (3.6). Then, we give the general expression of the electrical potential produced outside a ball-and-stick neuron.

First term in the right half of equation (3.6)

By definition of the directional derivative :

$$\frac{\partial V}{\partial \hat{n}} dS' = \nabla V \cdot \hat{n} a d\theta' dz' \quad (3.6.1)$$

where a is the stick radius. It is noteworthy that ∇V is independent of θ' in the ball-and-stick model, because it has cylindrical symmetry.

a) Contribution of the stick : On the stick, the distance d between two points (x, y, z) and (x', y', z') is given by the following expression (see fig. 3.6.1).

$$d = \sqrt{a^2 + \rho^2 - 2a\rho \cos(\theta - \theta') + (z - z')^2} \quad (3.6.2)$$

where a is the stick radius, $\rho^2 = x^2 + y^2$, θ and θ' are respectively the angles between the vectors (x, y, z) and (x', y', z') relatively to the X, Y and Z axis. For a position far away from the neuron, the radius a can be neglected ($a/d \rightarrow 0$), and we have asymptotically

$$d_{asymp} = \lim_{(a/\|\vec{x}\|) \rightarrow 0} d = \sqrt{x^2 + y^2 + (z - z')^2} \quad (3.6.3)$$

Hence, d does not vary a lot with θ far away from the neuron, but it is not true for a position close to the neuron.

Furthermore, we have $\vec{j}^g \cdot \hat{n} = -\gamma \nabla V_e \cdot \hat{n}$ where V_e is the electrical potential on the outside surface of the neuron relatively to a reference placed far away. We have then

$$\frac{i_m a d\theta dz}{2\pi a \gamma} = -\frac{1}{\gamma} \vec{j}^g \cdot \hat{n} a d\theta dz = \frac{\partial V_e}{\partial \hat{n}} dS'$$

where i_m is the transmembrane current by length unit on the stick. *The negative sign in the second term of these equivalent expressions means that we consider inwards transmembrane currents in the stick as positive.* The transmembrane current is a generalized current [3] because its mathematical expression corresponds to the sum of free charge currents and displacement currents²

Thus, the first term of the left part of equation (3.6) can be written as follows :

$$V_{stick}^{(1)} = \frac{1}{4\pi} \int_{stick} \frac{i_m}{\gamma} dz \int_0^{2\pi} \frac{1}{2\pi \sqrt{a^2 + \rho^2 - 2a\rho \cos(\theta - \theta') + (z - z')^2}} d(\theta' - \theta) \quad (3.6.4)$$

on the stick. Note that the integral with respect to $\theta' - \theta$ of the function $1/d$ in the expression (3.10) is independent of θ . As a consequence, V_{stick} is symmetrical with respect to θ , which is consistent with the symmetry properties of the ball-and-stick model³.

Far enough from the stick, the expression (3.10) can be approximated by the following one (see eq. 3.9) :

$$V_{stick}^{(1a)} = \frac{1}{4\pi\gamma} \int_{stick} \frac{i_m}{d_{asymp}} dz \quad (3.6.5)$$

where d_{asymp} can be interpreted as the distance between the position and the axis of the stick.

Finally, the contribution of the first term of the right member of equation (3.6) corresponds to the classical expression of the contribution of the stick to the electrical potential, from far away (eq 3.11). Closer to the stick, the expression (3.10) should be preferred.

2. The displacement current is often named “capacitive current” in the literature.

3. To write this expression, we used $d\theta' = d(\theta' - \theta)$ because $d\theta = 0$ and the fact that the definite integral of a 2π -periodical function between $-\theta$ et $-\theta + 2\pi$ is equal to the same integral taken between 0 and 2π . This integral can be explicitly written with elliptic integrals, but it is of little use because it can be computed numerically with a small program.

b) Somatic contribution : The contribution of the soma to the first term can be expressed as follows :

$$V_{soma}^{(1)} = \frac{1}{4\pi} \iint_{soma} \frac{1}{d} \nabla V_e \cdot \hat{n} dS' \quad (3.6.6)$$

For simplification, let us complete the surface of the soma by adding the soma-to-stick junction. This approximation is great when the diameter of the stick is much smaller than that of the soma. The “extended” soma surface allows us to use the theorem of the mean on harmonic functions - the function $1/d$ is harmonic for $d \neq 0$ because $\nabla^2(1/d) = 0$ when $d \neq 0$.

Assuming the soma is an equipotential surface and the extracellular medium surrounding it is isotropic, then currents flowing inwards or outwards the soma is isotropic⁴, we have :

$$\frac{i_s^g}{\gamma S_{soma}} dS' = -\frac{\vec{j}^g \cdot \hat{n}}{\gamma} dS' = \nabla V_e \cdot \hat{n} dS' \quad (3.6.7)$$

where i_s^g is the generalized current flowing inwards or outwards. We use the same convention as previously for the direction of currents (see blue italic sentence above). Thus, we have

$$V_{soma}^{(1a)} \approx V_{soma \text{ prolonge}} = \frac{i_s^g}{4\pi\gamma S'} \iint_{soma \text{ prolonge}} \frac{1}{d} dS' = \frac{i_s^g}{4\pi\gamma d_c} \quad (3.6.8)$$

where d_c is the distance from the geometrical center of the soma. The third term comes from a direct application of the theorem of the mean⁵.

In spite of that, we can express the contribution of the soma by subtracting the added term. This yields

$$V_{soma}^{(1)} = \frac{i_s^g}{4\pi\gamma} \left[\frac{1}{d_c} - \frac{1}{d} \frac{S_{os}}{S_{soma}} \right] \quad (3.6.9)$$

where S_{os} is the area of the stick-to-soma junction and d is the distance between the geometrical center of this junction and the position where we want to compute the contribution of the soma to the electrical potential.

Second term of equation (3.6)

Contribution of the stick : Close to the stick, the contribution of the second term is non negligible in general, and equal to

$$V_{stick}^{(2)} = -\frac{1}{4\pi} \iint_{\partial\mathbb{D}} V_e \frac{\partial(1/d)}{\partial \hat{n}} dS' = \frac{1}{4\pi} \iint_{stick} V_e \frac{\hat{d} \cdot \hat{n}}{d^2} dS' \quad (3.6.10)$$

where $dS' = a d\theta dz$. V_e can be computed with the following formula [3] :

$$V_e = V_m + Z_e^{(m)} i_m \quad (3.6.11)$$

4. This is a good approximation in the first order.

5. The following theorem holds for harmonic functions.

$$f_c = \frac{1}{S'} \iint_{\partial\mathbb{D}} f dS'$$

where f_c is the value of f at the geometrical center of the domain \mathbb{D} .

Conversely, far away from the stick :

$$\iint_{\partial \mathbb{D}} V_e \frac{\partial(1/d)}{\partial \hat{n}} dS' = - \iint_{\partial \mathbb{D}} V_e \frac{\hat{d} \cdot \hat{n}}{d^2} dS' = 0 \quad (3.6.12)$$

because the radius of the stick can be neglected. Thus, the second term of (3.6) makes a very small contribution far away from the stick. The solid angle from which we see a finite segment of the stick becomes quickly very small as the distance from the stick increases.

Somatic contribution : with the same approximation as above for the first term somatic contribution, and under the hypothesis that the soma is an equipotential surface, we have for a point out of the soma :

$$\iint_{\partial \mathbb{D}} V \frac{\partial(1/d)}{\partial \hat{n}} dS' = -V \iint_{\partial \mathbb{D}} \frac{\hat{d} \cdot \hat{n}}{d^2} dS' = 0 \quad (3.6.13)$$

because the extended soma is a closed surface. Thus, the soma barely contributes to the second term because the solid angle from which we see the soma-to-stick junction becomes quickly very small. We have then :

$$V_{soma}^{(2)} = V_s \iint_{S_{os}} \frac{\hat{d} \cdot \hat{n}}{d^2} dS' \quad (3.6.14)$$

which corresponds to the solid angle between the normal to the soma-to-stick junction and point P.

Explicit expression of the electrical potential produced by the ball-and-stick.

Combining the expressions (3.6.5,3.6.9,3.6.10,3.6.14) gives an explicit expression of the electrical potential generated by the neuron. Thus, we have

$$\begin{aligned} V = & \frac{1}{4\pi} \int_{stick} \frac{i_m}{Y} dz \int_0^{2\pi} \frac{1}{2\pi \sqrt{a^2 + p^2 - 2ap \cos(\theta - \theta') + (z - z')^2}} d(\theta' - \theta) + \frac{i_s^g}{4\pi Y} \left[\frac{1}{d_c} - \frac{1}{d} \frac{S_{os}}{S_{soma}} \right] \dots \\ & + \frac{1}{4\pi} \iint_{stick} (V_m + z_e^{(m)} i_m) \frac{\hat{d} \cdot \hat{n}}{d^2} dS' + (V_m + z_e^{(m)} i_m) \iint_{S_{os}} \frac{\hat{d} \cdot \hat{n}}{d^2} dS' \end{aligned} \quad (3.6.15)$$

To compute this expression, one only needs to know the spatial distributions of each part of the Fourier spectrum of the voltage and membrane current on the stick and on the soma.

Acknowledgments

Research supported by the CNRS, and grants from the European Union (BrainScales FP7-269921, Magnetorodes FP7-600730 and the Human Brain Project).

3.7 Références

- [1] C Bédard, A Destexhe, Generalized theory for current-source-density analysis in brain tissue, *Phys. Rev. E* 84 (4), 041909 (2011). [77](#), [78](#)
- [2] Claude Bédard and Alain Destexhe, Mean-field formulation of Maxwell equations to model electrically inhomogeneous and isotropic media, *J. Electromag. Analysis and Applications* (6) , 10 p.219 (2014). [78](#)
- [3] C Bédard, A Destexhe, Generalized cable theory for neurons in complex and heterogeneous media, *Phys. Rev. E*, (2013). [77](#), [78](#), [80](#), [81](#), [90](#), [93](#), [94](#)
- [4] Claude Bédard and Alain Destexhe, Generalized cable formalism to calculate the magnetic field of single neurons and neuronal populations, *Phys. Rev. E* 90 (4), 042723 (2014). [78](#)
- [5] V.I. Smirnov, *A course of higher mathematics V.2*, Pergamon Press, Moscow, Russia (1964). [79](#)
- [6] W. Rall, Electrophysiology of a dendritic neuron model, *Biophys J.* **2**, 145 (1962). [77](#), [80](#)
- [7] W. Rall, *The theoretical foundations of dendritic function*, MIT Press, Cambridge, MA, (1995). [77](#), [80](#)
- [8] Jean-Marie Gomes, Claude Bédard, Silvana Valtcheva, Matthew Nelson, Vitalia Khokhlova, Pierre Pouget, Laurent Venance, Thierry Bal and Alain Destexhe, Cerebral cortex is electrically equivalent to a diffusive medium (2015). [77](#), [78](#), [81](#), [82](#)
- [9] C Bédard, H Kröger, A Destexhe, Modeling extracellular field potentials and the frequency-filtering properties of extracellular space, *Biophys. J.* 86 (3), 1829-1842 (2004). [79](#)
- [10] C Bédard, A Destexhe, Modeling local field potentials and their interaction with the extracellular medium, *Handbook of Neural Activity Measurement* (2012). [79](#)
- [11] C Bédard, A Destexhe, Pitfalls in the interpretation of multielectrode data : on the infeasibility of the neuronal current-source monopoles. Reply to Gratiy et al., *J. Neurophysiol.* 109 (6), 1683 (2013).
- [12] S. Murakami and Y. Okada, Contributions of principal neocortical neurons to magnetoencephalography and electroencephalography signals, *J. Physiol.* 575.3 , 925 (2006).
- [13] H. Lindén, T. Tetzlaff, T.C. Potjans, K. H. Pettersen, S. Grün, M. Diesmann, and G. T. Einevoll. Modeling the spatial reach of the LFP. *Neuron*, 72(5), 859-872 (2011). [77](#)
- [14] V. Braitenberg, A. Schüz. *Cortex : statistics and geometry of neuronal connectivity*. Springer Science & Business Media (2013). [83](#)
- [15] N. Dehghani, A. Peyrache, B. Teleńczuk, M. L. Van Quyen, E. Halgren, S. S. Cash, and A. Destexhe. Multiscale balance of excitation and inhibition in single-unit ensemble recordings in human and monkey neocortex. *arXiv preprint arXiv :1410.2610* (2014). [90](#)
- [16] G. Buzsàki, C. A. Anastassiou and C. Koch, The origin of extracellular fields and currents—EEG, ECoG, LFP and spikes, *Nat. Rev.* 13, 407 (2012). [87](#)
- [17] A. Destexhe and C. Bédard, *Local field potential*, *Scholarpedia* 8 (8), 10713, (2013).
- [18] N.K. Logothetis, C. Kayser, and A. Oeltermann, In vivo measurement of cortical impedance spectrum in monkeys : implications for signal propagation, *Neuron* **55**, 809 (2007).

- [19] S. Gabriel, R.W. Lau, and C. Gabriel, The dielectric properties of biological tissues : I. Literature survey, *Phys. Med. Biol.* **41** , 2231 (1996).
- [20] S. Gabriel, R.W. Lau, and C. Gabriel, The dielectric properties of biological tissues : II. Measurements in the frequency range 10 Hz to 20 GHz, *Phys. Med. Biol.*, **41**, 2251 (1996). [77](#)
- [21] C. Bédard, H. Kröger, and A. Destexhe, Model of low-pass filtering of local field potentials in brain tissue, *Phys. Rev. Lett.* **97**, 118102 (2006).
- [22] M. Bazhenov, P. Lonjers , P. Skorheim , C. Bédard and A. Destexhe, Non-homogeneous extracellular resistivity affects the current-source density profiles of up-down state oscillations, *Phil. Trans. R. Soc. A* **369**, 3802 (2011).
- [23] C. Bédard, S. Rodrigues, , N. Roy, D. Contreras and A. Destexhe, Evidence for frequency-dependent extracellular impedance from the transfer function between extracellular and intracellular potentials : intracellular-LFP transfer function., *J. Computational Neurosci.* **29**, 389 (2010).
- [24] N. Dehghani, C. Bédard, S.S. Cash, , E. Halgren, and A. Destexhe, Comparative power spectral analysis of simultaneous electroencephalographic and magnetoencephalographic recordings in humans suggests non-resistive extracellular media, *J. Computational Neurosci.* **29**, 405 (2010). [77](#)
- [25] C. Bédard and A. Destexhe, *Phys. Rev. E* **84**, 041909 (2011).
- [26] J.J. Riera, T. Ogawa, T. Goto, A. Sumiyoshi, H. Nonaka, A. Evans, H. Miyakawa and R. Kawashima, *J. Neurophysiol.* **108**, 956 (2012).
- [27] U. Mitzdorf, Current source-density method and application in cat cerebral cortex : investigation of evoked potentials and EEG phenomena, *Phys. Rev.*, **65**(1), 37 (1985).
- [28] H.C. Tuckwell, *Introduction to Theoretical Neurobiology : Linear cable theory and dendritic structure*, Cambridge University Press, Cambridge, UK (1988).
- [29] D. Johnston and S.M. Wu, *Foundations of cellular neurophysiology*, MIT Press, Cambridge, MA (1995).
- [30] C. Koch, *Biophysics of Computation*. Oxford University press, Oxford, UK (1999).
- [31] K. S. Cole, R. H. Cole, Dispersion and absorption in dielectrics I. Alternating current characteristics, *J. Chemical Phys.*, Vol. 9, 341 (1941).
- [32] L.D. Landau and E.M. Lifshitz, *Electrodynamics of Continuous Media*, Pergamon Press, Moscow, Russia (1984).
- [33] C. Bédard, H. Kröger, and A. Destexhe, Model of low-pass filtering of local field potentials in brain tissue, *Phys. Rev. E* **73** , 051911 (2006).
- [34] C. Bédard and A. Destexhe, Macroscopic models of local field potentials and the apparent 1/f noise in brain activity., *Biophys. J.* **96**, 2589 (2009).
- [35] M. George, S. Lisanby, and H. Sackeim, Transcranial magnetic stimulation : applications in neuropsychiatry, *Arch. Gen. Psychiatry*, **56** (4) , 300 (1999).
- [36] S.J. Salon, M.V.K. Chari, *Numerical Methods in Electromagnetism*, Academic Press (1999).

- [37] J. DeFelipe, P. Marco, I. Busturia, and A. Merchàn-Pérez, Estimation of the number of synapses in the cerebral cortex : methodological considerations, *Cereb. Cortex* **9** (7), 722 (1999).
- [38] A.M. Cassarà, G.E. Hagberg, M. Bianciardi, M. Migliore, and B. Maraviglia, Realistic simulations of neuronal activity : A contribution to the debate on direct detection of neuronal currents by MRI, *NeuroImage* 39, 87 (2008).

Chapitre 4

On the relation between intracellular and extracellular potentials in cerebral cortex

« L'homme de science qui s'arrêterait à considérer toutes les anomalies qu'il remarque arriverait rarement à rédiger une oeuvre de valeur. »

Thomas S. Kuhn

Sommaire

Résumé du chapitre	100
4.1 Abstract	101
4.2 Introduction	101
4.3 Materials and Methods	102
4.3.1 <i>In vitro</i> experiments	102
4.3.2 Analysis	102
4.4 Results	104
4.4.1 Measurement of the transfer function between intracellular and extracellular potentials	104
4.4.2 Modeling the transfer function	105
4.4.3 Impact on inverse problems such as CSD evaluation	108
4.5 Discussion	111
4.5.1 Recording and characterizing the transfer function	111
4.5.2 Comparison against previous estimations and models	111
4.5.3 Physical interpretations	113
4.5.4 Open problems	113
4.6 Références	116

Résumé du chapitre

Bien que les potentiels de champs locaux (LFP) soient porteurs d'une information riche (Katzner et collab. 2009), les mécanismes de leur genèse sont toujours méconnus. Leur étude se divise en deux principales classes de problèmes : la prédiction des LFP résultant de l'activité neuronale est appelée « problème direct » (Bédard et collab. 2004, 2009), alors que le « problème inverse » consiste à reconstruire l'activité cellulaire d'après des enregistrements extracellulaires (Mitzdorf 1985).

Il est possible de relier l'entrée et la sortie d'un système linéaire par une fonction de transfert ; l'application de ce formalisme aux neurones a déjà permis des avancées dans les problèmes direct et inverse (Bédard et collab., 2010). Le travail présenté ici est réalisé dans le domaine fréquentiel, où les phénomènes électriques subliminaires sont linéaires dans le tissu cérébral.

Ici, nous calculons et modélisons la fonction de transfert d'un neurone à partir d'enregistrements intracellulaires. Cette fonction relie les potentiels intra- et extracellulaires par la relation suivante : $H(\omega) = V_{\text{LFP}}(\omega)/V_i(\omega)$. Les résultats sont interprétés dans un cadre théorique qui a été développé et soutenu par des études précédentes (Bédard et al. 2006, 2010, Gomes et al. 2015). Dans ce cadre, l'hétérogénéité microscopique du milieu cérébral est prise en compte, et des phénomènes tels que la diffusion ionique apparaissent, qui rendraient le milieu électriquement dépendant en fréquence. Ce formalisme étant capable de décrire l'« impédance naturelle » mesurée à l'aide d'un neurone, sa contribution est utile à la description de la dépendance en fréquence de la fonction de transfert.

Les principales conclusions sont les suivantes :

- La fonction de transfert a une forme conservée à travers les neurones, qui ne peut en aucun cas être expliquée dans le cadre du modèle résistif traditionnel du cortex cérébral. Une impédance diffusive est nécessaire mais non suffisante pour expliquer les observations.
- La forme de la fonction de transfert, ainsi que plusieurs résultats expérimentaux précédents, peuvent s'expliquer par un modèle simple prenant en compte la diffusion ionique, si l'on admet la possibilité d'un court-circuit entre l'électrode extracellulaire et la masse.
- Ce même modèle se révèle significativement plus efficace que le modèle résistif classique, pour aborder les problèmes direct et inverse - en particulier l'évaluation de la densité de sources de courant.

Le modèle permettant de capturer les résultats repose sur des phénomènes dont l'intervention est plausible, mais encore non prouvée. Nous proposons une méthode permettant de vérifier leur implication.

On the relation between intracellular and extracellular potentials in cerebral cortex

Auteurs : Jean-Marie Gomes, Claude Bédard, Thierry Bal et Alain Destexhe.

Remerciements : Travaux financés par le CNRS, le Ministère de la Recherche, l'ANR (projet Complex-V1), la Communauté Européenne (BrainScales FP7-269921, Magnetorodes FP7-600730 et le Human Brain Project FP7-604102).

4.1 Abstract

The relation between intracellular and extracellular potentials in neural tissue is very incompletely known, but is important for several problems such as the analysis of the local field potential (LFP) or the estimation of neuronal activity from LFP recordings. In the present paper, we investigate this issue first experimentally by using simultaneous whole-cell and LFP recordings in brain slices. We characterize the profile of the transfer function between intracellular and extracellular potentials. Next, we study different possible models to explain the experimental recordings and we find that the transfer function is best fit by a diffusive impedance, but it is necessary to include a “shunt” to account for the high conductivity of the aqueous interface around the electrode. Such a diffusive-shunt model could explain some discrepancies between previous measurements of the extracellular impedance. Finally, we show that the spectral structure of the LFP can be predicted from intracellular potentials, and vice-versa, the transfer function allows more accurate estimates of neuronal current sources from LFP recordings.

4.2 Introduction

Although local field potentials (LFPs) carry rich information (Pesaran et al. 2002 ; Henrie & Shapley 2005 ; Scherberger et al. 2005 ; Katzner et al. 2009), the mechanisms underlying their genesis are still poorly understood. Their study divides into two main classes of problems : predictions of the LFPs resulting from neuronal activity are categorized as “direct problems” (Bédard et al. 2004, 2009 ; Lindén et al. 2011 ; Zheng et al. 2012), whereas “inverse problems” consist of recovering cellular activity from extracellular recordings (Mitzdorf 1985 ; Pettersen et al. 2006). It is possible to relate the inputs and the outputs of a linear system by a transfer function, and this formalism applied to neurons has already provided insight on both direct and inverse problems (Bédard et al. 2010). We work in the frequency domain, where subthreshold electric phenomena are linear in brain tissue.

Here, we compute and model the transfer function of a neuron from intracellular recordings. This function relates the intra- and extracellular potentials, such as : $H(\omega) = V_{\text{LFP}}(\omega)/V_i(\omega)$. Our results are interpreted within a theoretical framework that has been developed and backed by previous studies (Bédard et al. 2006, 2010, Gomes et al. 2015). In this framework, microscopic heterogeneity of the brain medium is taken into account,

and phenomena such as ionic diffusion may occur that would endow the medium with frequency-dependant behavior. As this formalism is successful to describe the “natural impedance” measured by a neuron, it should be useful in explaining the frequency scaling of the transfer function.

In a first part, we show that ionic diffusion is necessary but not sufficient to explain observations, and propose a more complete model of the transfer function. In the second part, we test this new formalism against both direct and inverse problems, including current source density evaluation methods.

4.3 Materials and Methods

Unless specified otherwise, all methods were described with more detail in Gomes, Bédard et al., 2015.

4.3.1 *In vitro* experiments

Neurons were recorded in whole-cell patch-clamp configuration, in cortex layer V, in 300 μm -thick slices of Swiss mice perfused with oxygenated Artificial Cerebro-Spinal Fluid (ACSF) at 35°C. Extracellular recordings of the potential (V_{LFP}) were performed by silver-silver chloride electrodes through $\approx 4 M\Omega$ glass pipettes, about 20 μm apart from the neuron. The recording frequency was 20 kHz.

For $N = 21$ cells, two protocols were ran :

- the “30 pA” protocol consisted in the injection of white noise current, with a standard deviation of $\sigma=30$ pA.
- its “100 pA” counterpart had $\sigma=100$ pA.

For five other cells, LFPs were recorded with high impedance pipettes (roughly a hundred $M\Omega$; see fig. 4.5.2).

4.3.2 Analysis

Parameters fitting

Due to the little magnitude of the recorded LFPs, the measured transfer function is much noisier than the measured impedance. Therefore, the evaluation of model parameters was performed in two steps for each cell :

1. Determination of a first subset : cellular parameters (R_m , τ_m , f_W ...) by fitting the impedance models to the impedance data;
2. Determination of a second subset of parameters that can only be determined by fitting the experimental transfer function (R_e , R_{ACSF} , α).

This strategy allows to have strong constraints on all parameters.

When predicting membrane currents from LFP recordings, the electrical characteristics of surrounding units can only be guessed in the general case. To reproduce this difficulty - and overcome it, we chose typical and realistic values by picking the median of

each parameter (e.g., the median of all membrane capacitances obtained by fitting the natural impedances of 21 cells).

Smoothing

Even to the trained eye, noisy sets of data can be difficult to compare because of the limitations of graphical representation. In order to ease these comparisons for the reader, the locally weighted scatterplot smoothing (LOWESS) algorithm (Cleveland, 1979) included in the open-source Python package “Statsmodels” was used to smooth data. To avoid any possible systematic error, this operation was performed after all analyses and right before plotting.

Operations

All recorded quantities and the operations that link them are presented in figure 4.3.1.

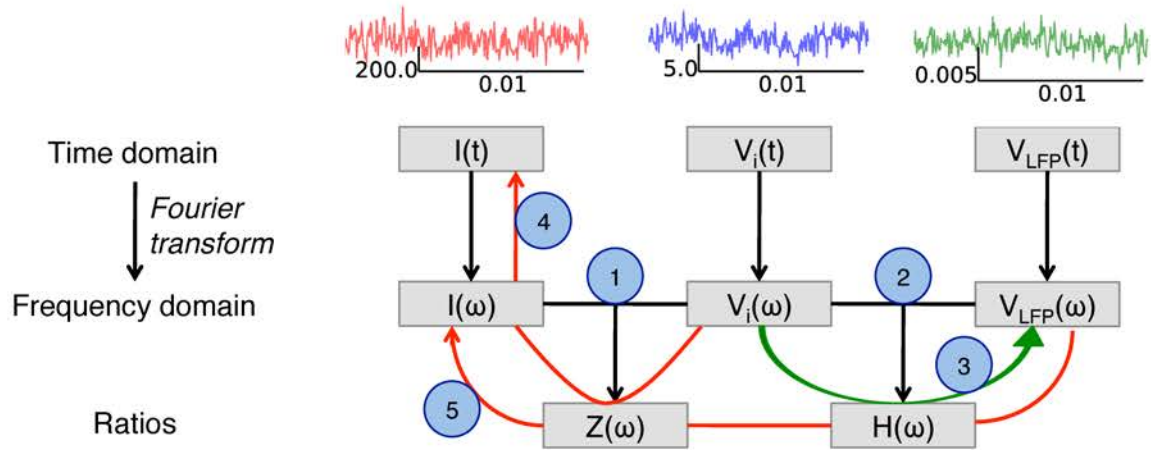


FIGURE 4.3.1 – Recorded quantities and operations performed on them. Top : injected current (pA), intracellular voltage (mV), LFP (mV). Bottom : 1, computation of the natural impedance (fig. 4.4.1 D) ; 2, computation of the transfer function (fig. 4.4.2) ; 3, prediction of the LFP (fig. 4.4.3) ; 4, reconstruction of the current from V_i (fig. 4.4.4) ; 5, reconstruction of the current from V_{LFP} (fig. 4.4.5). Forward modeling is shown as a green path, inverse modeling is shown as two red paths.

4.4 Results

We first show the experimental measurements of the transfer function, and in a second step, we discuss which model fits data best. The consequences for relating extracellular and intracellular potentials are discussed.

4.4.1 Measurement of the transfer function between intracellular and extracellular potentials

To find the relation between the potential of two points in a circuit, one has to know the equivalent impedance of the components that connect them. Because of the complex composition of the cortical medium, such an equivalent impedance is delicate to predict; there is an ongoing controversy about how it should be measured. In a previous paper (Gomes et al. 2015), we used a whole-cell patched neuron as a probe to measure the “natural impedance” of the extracellular medium (see figure 4.4.1 D). We found that this natural impedance is non-negligible ($\approx 100 \text{ M}\Omega$ at 10 Hz), and has a strong frequency dependence. These measurements can be predicted theoretically with good accuracy using a “diffusive” model, while the traditional “resistive” model is unable to account for these measurements (Gomes et al., 2015). The experiential setup is here identical to this previous paper, and is illustrated in Fig. 4.4.1A, as well as a summary of the impedance measurements.

The transfer function was measured in $N = 21$ cells, by injecting white noise in a neuron in whole-cell patch-clamp configuration. We recorded the membrane current I , as well as intra and extracellular potentials V_i and V_{LFP} . Using Fourier transforms, for each cell, we calculated the natural impedance $Z(\omega) = V(\omega)/I(\omega)$ and the transfer function $H(\omega) = V_{\text{LFP}}(\omega)/V_i(\omega)$. Such measurements are displayed in Fig. 4.4.2. On the modulus (left), the smoothed trace (cyan) shows a moderate frequency dependence, with a median slope of 0.43 ± 0.27 at high frequencies. This significantly differs from the slope of 1 predicted by a purely resistive model (see analysis below). The small bump at 50 Hz is due to power supply interferences.

For all 21 cells, the slope of the modulus was smaller than 1 in high frequencies (Fig. 4.4.2C). While the resistive model (blue curve) yields too strong of a prediction for this slope, the simple diffusive model (green) predicts a nearly flat modulus for H , while the “diffusive-shunt” model (red) is strikingly close to the data (cyan), especially between 10 and 300 Hz (fig. 4.4.2A). The errors made by this latter model are significantly smaller than the errors produced by both resistive or diffusive models ($p < 0.05$, see fig. 4.4.2D).

The phase was very noisy, but adequate smoothing allowed to recover some information (figure 4.4.2B). In typical cells, the phase climbed steadily from 0-10 degrees to a maximum of 30-45 degrees around 20 Hz. Then, it declined slowly to reach about 15-25 degrees at 1 kHz. The resistive model has a monotonous slope reaching 90 degrees at 1 kHz, and never was able to reflect the phase accurately. The dynamics of both diffusive and diffusive-shunt models were similar to that of the measured phases, although often off by about 10 degrees. In many cases, the envelope of the measured phase was comprised between the predictions of those two models (not shown).

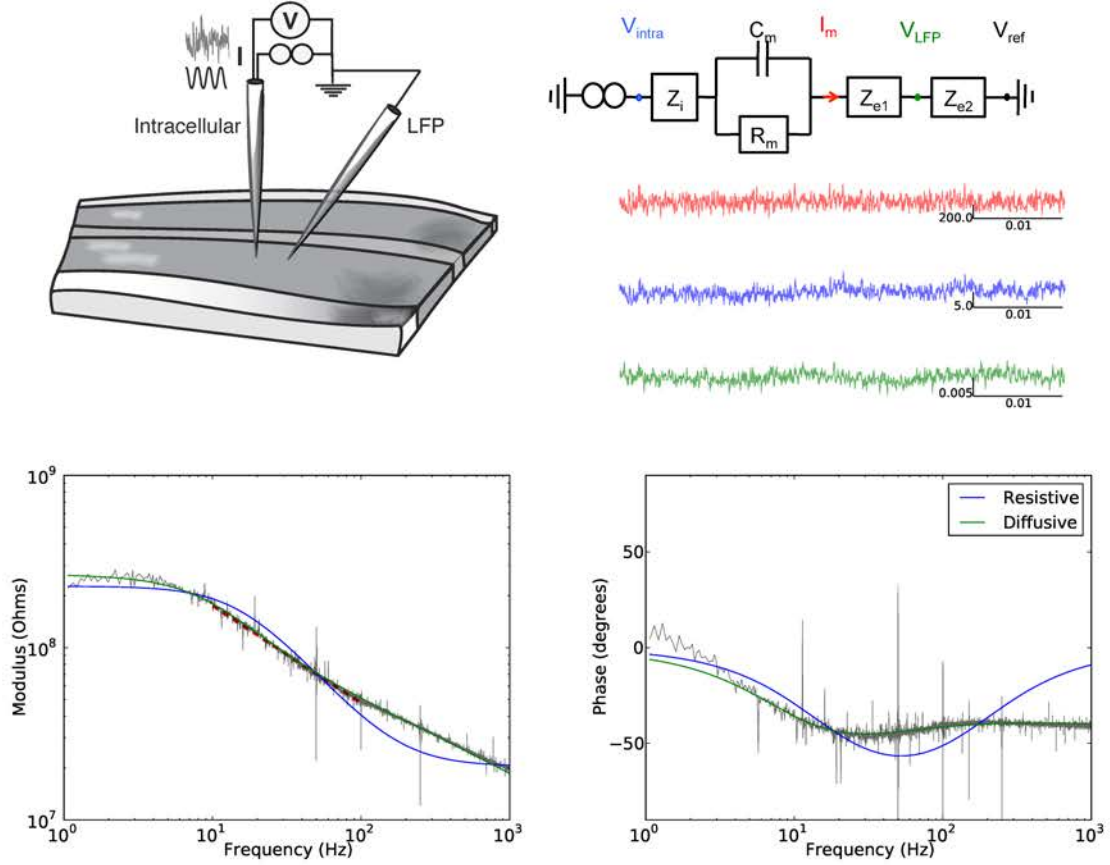


FIGURE 4.4.1 – Experimental setup : model and signals. **Top left.** Scheme of the experimental setup. The LFP pipette is implanted 20 μm away from the soma of the patched cell. **Top right.** Equivalent circuit of a neuron embedded in the extracellular medium. **Bottom left.** From top to bottom : intensity of the injected current (nA), intracellular voltage (mV), extracellular voltage (mV). **Bottom right.** Natural impedance measured by a neuron, fitted by a resistive model (blue) and a diffusive model (green). Left, modulus ; right, phase.

4.4.2 Modeling the transfer function

Different models considered

To find the best model that explains the transfer function, we consider the following models. First, a resistive model, where the impedance of the system is given by :

$$Z_{eq}^{res}(\omega) = Z_m + R_e \quad (4.4.1)$$

where the membrane impedance of the neuron used as a probe is $Z_m = \frac{R_m}{1+i\omega\tau_m}$, R_m and τ_m being the membrane resistance and time constant respectively.

Second, we consider a “diffusive” impedance

$$Z_{eq}^{diff}(\omega) = Z_m + Z_W \quad (4.4.2)$$

where

$$Z_W(\omega) = \frac{A + iB}{1 + \sqrt{i \frac{\omega}{\omega_W}}}$$

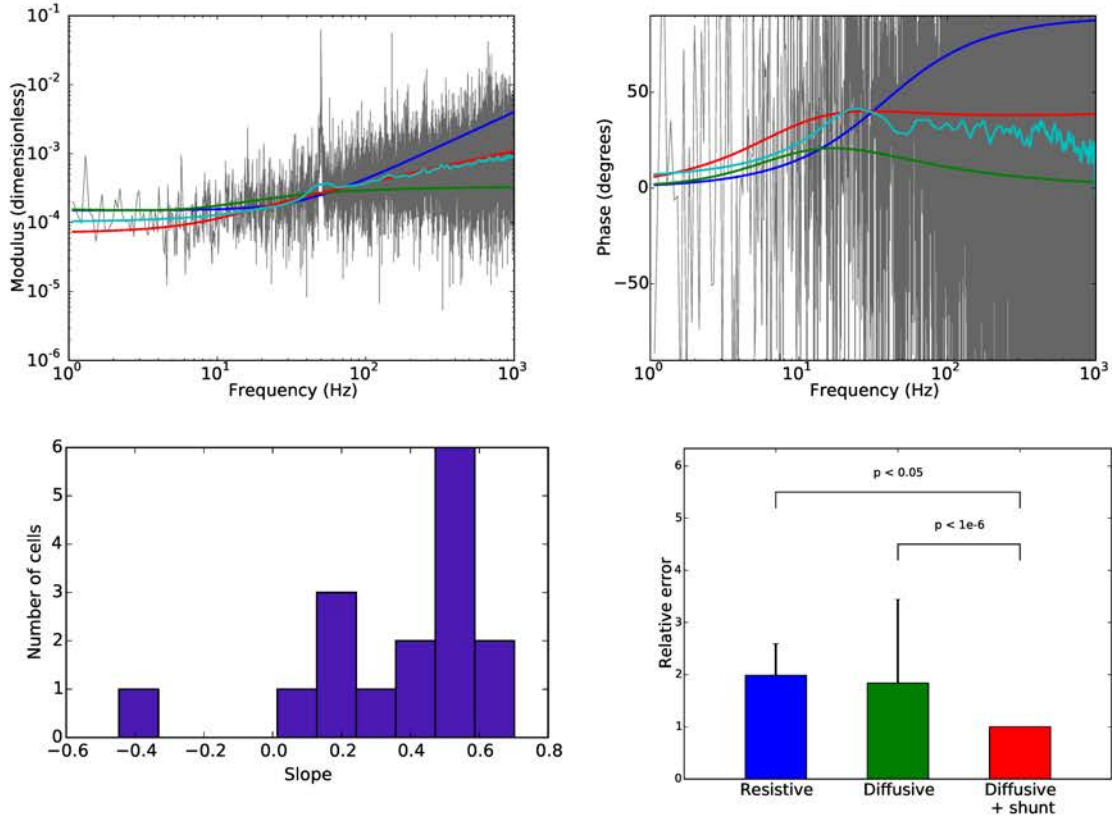


FIGURE 4.4.2 – The transfer function of cortical cells, *in vitro*. **Top** : Modulus and phase of V_{LFP}/V_{intra} as a function of frequency, in grey. The colored curves are respectively : in blue, a resistive model ; in green, a model including ionic diffusion ; in red, a model including ionic diffusion and a possible shunt in measurements. **Bottom left** : Distribution of the frequency scaling (slope in log-log space). **Bottom right** : Relative errors of models with respect to data.

is a Warburg impedance, corresponding to lumped Z_i , Z_{e1} and Z_{e2} on Fig. 4.4.1. A and B scale the amplitude and phase, and $f_W = \frac{2\pi}{\omega_W}$ is a Warburg cutoff frequency (Bédard and Destexhe, 2011 ; Gomes et al., 2015).

We propose a third model, taking into account ionic diffusion but also a possible shunt (or “shortcut”), via the small resistance of ACSF, between the extracellular recording and the ground. This hypothesis only affects the expression of H ; as a consequence, this model is not relevant in computations where V_{LFP} is not involved (e.g. fig. 4.4.1 D).

In the time domain, the relations between membrane electric activity and LFPs are complex. Depending on the distance between the recording site and this activity, one may see the variations of potentials, or its derivatives, or a combination of these (Hubbard et al., 1969). In the frequency domain, everything is linear (Gomes et al. 2015) - thus, a direct relation between the intracellular potential V_i and the extracellular potential V_{LFP} can be measured and be useful.

We define the dimensionless transfer function between the intracellular potential V_i and the extracellular potential V_{LFP} as :

$$H(\omega) = \frac{V_{LFP}(\omega)}{V_i(\omega)}$$

Reading figure 4.4.1 as a voltage divider yields the general expression for the transfer function :

$$H_{res}(\omega) = \frac{Z_{e2}}{Z_i + Z_m + Z_{e1} + Z_{e2}} \quad (4.4.3)$$

The expressions of the transfer function are thus given by table 4.1 :

Model	Resistive	Diffusive	Diffusive + shunt
Features	$Z_i \approx 0$ $Z_{e1} = Z_{e2} = R_e$	$Z_i + Z_{e1} = \beta Z_W$ $Z_{e2} = \alpha Z_W$ $\alpha + \beta = 1$	$Z_i + Z_{e1} = Z_W$ $Z_{e2} = R_{ACSF}$
$H(\omega)$	$\frac{R_e}{Z_m + 2R_e}$	$\frac{\alpha Z_W}{Z_m + Z_W}$	$\frac{R_{ACSF}}{Z_m + Z_W + R_{ACSF}}$

TABLEAU 4.1 – Expressions of the transfer function for three electrical models of the experimental setup.

Forward prediction of the transfer function

We next compared the measured transfer functions with model predictions for the 21 cells recoded in this study. One main finding is that both resistive and diffusive models are unable to correctly fit the data. The measured transfer function presents a frequency scaling which is intermediate between these two models, suggesting that a combination of resistive and diffusive impedances may be close to reality. Indeed, including a resistive “shunt” in parallel to the diffusive impedance seems to optimally fit the frequency dependence measured experimentally (Fig. 4.4.2 A and B). If we define γ as the apparent scaling factor of frequency dependence for high frequencies (above 20 Hz) : $H(\omega) \propto \omega^\gamma$, the distribution of γ across cells clearly peaks around +0.5 (fig. 4.4.2 C).

As shown in Table 4.4.3, models predict different frequency scaling :

- For the resistive model, the only expected frequency dependence comes from the plasma membrane. At high frequencies : $H(\omega) \propto \omega^1$ ($\gamma \approx 1$).
- For the diffusive model : $Z_W / (Z_W + Z_m) \propto 1/\sqrt{\omega} / (1/\sqrt{\omega} + 1/\omega) \propto \omega^0$ ($\gamma \approx 0$).
- For the diffusive model with shunt : $R_{ACSF} / (Z_W + Z_m + R_{ACSF}) \propto 1/(1/\sqrt{\omega} + 1/\omega) \propto \omega^{\frac{1}{2}}$ ($\gamma \approx 0.5$), which is in good agreement with the observed value.

These models can be used to tackle the direct problem : predicting the “single-cell LFP” that is generated by a neuron when the intracellular potential is known. In the best cases, the transfer function could be measured during experiments and the reconstructed modulus is very close to the measured modulus of LFPs (Fig. 4.4.3A). But in the general case, we don’t have access to the intracellular potential and have to rely on models, the diffusive-shunt one being the best by far (Fig. 4.4.3B).

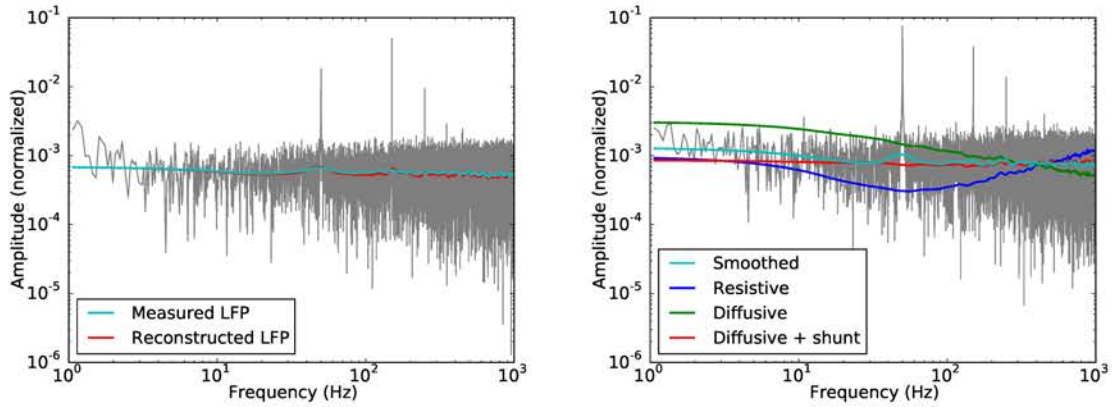


FIGURE 4.4.3 – Prediction of LFP spectra from intracellular recordings. **Left** : the measured modulus of the LFP (in grey) has been smoothed (in cyan), a reconstruction with the measured transfer function is shown in red. **Right** : the predictions of different models of the extracellular medium are represented : resistive (blue), diffusive (green) and diffusive with a shunt (red).

4.4.3 Impact on inverse problems such as CSD evaluation

In order to evaluate the impact these findings could have on current source estimation methods, we estimated the modulus (amplitude in Fourier space) of a current source from LFP recordings, using a two-step method. First, we computed the modulus of the intracellular potential ($V_i(\omega)$) with the measured or modeled transfer function ; second, we reconstructed the membrane currents from $V_i(\omega)$ with the measured or modeled natural impedance.

If Z and H can be measured

For $N = 21$ neurons in whole-cell patch-clamp configuration, we evaluated the natural impedance and transfer function with the “100 pA” protocol (see Methods). First, we used the estimations of $Z(\omega)$ jointly with $V_i(\omega)$ recordings from the “30 pA” protocol to reconstruct the membrane current $I_m(\omega)$ in each cell (fig. 4.4.4 A). An inverse Fourier transform allowed us to recover the time course of this current (that is, $I_m(t)$). The error made during this operation is very small : about 1 per cent (fig. 4.4.4 B). The natural impedance linking V_i and I_m is therefore a well-determined, stable and reliable quantity.

Second, we reconstructed directly I_m from the extracellular potential, using the measured natural impedance and transfer function :

$$I_m(\omega) = \frac{V_{LFP}(\omega)}{Z_{meas}(\omega)H_{meas}(\omega)}$$

The reconstructed modulus of I_m has exactly the same frequency scaling as the measured modulus (fig. 4.4.5 A) ; knowledge of the transfer function and natural impedance allows to recover a great amount of information about distant neural activity.

Because of the small amplitude of LFP signals and technical limitations on the signal-to-noise ratio (SNR), the incertitude on H_m is considerable with respect to the incertitude

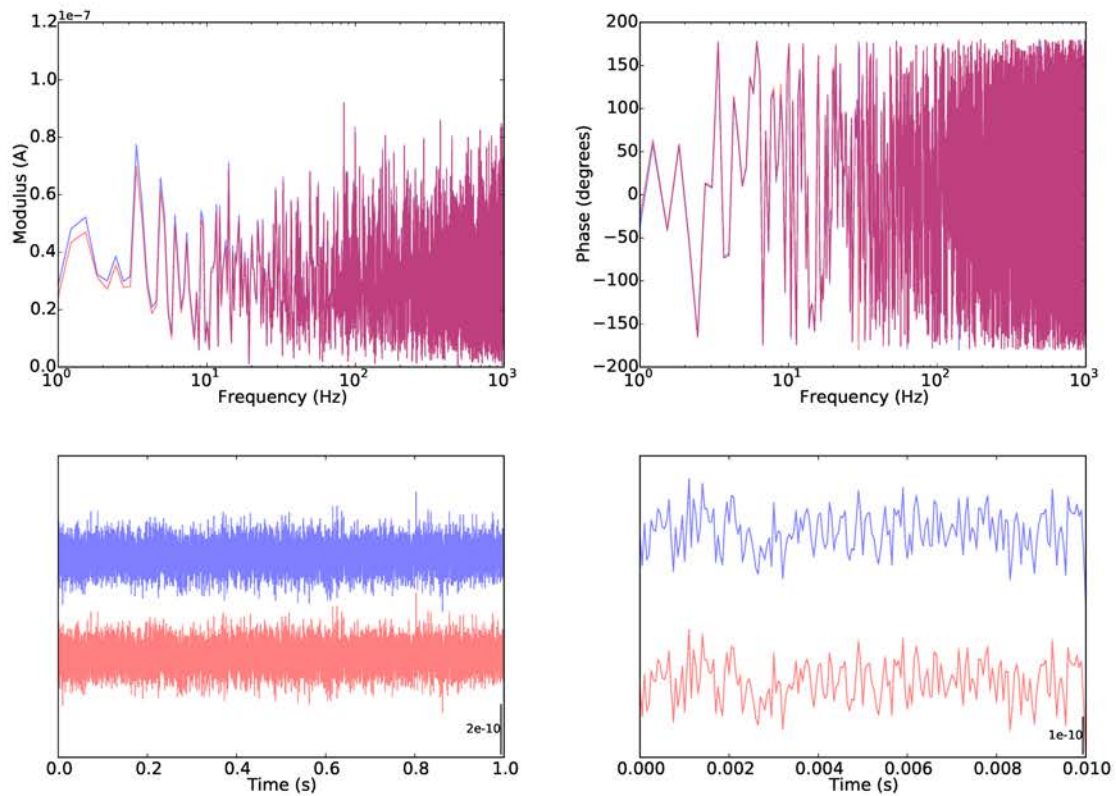


FIGURE 4.4.4 – Reconstruction of the membrane current I_m , from the intracellular potential V_i and a previous mesure of impedance in whole-cell patch-clamp configuration. **Top** : modulus and phase of $I_m(\omega)$. In blue : measured transmembrane current, in red : reconstructed as $I = V_i/Z$. **Bottom** : Membrane current in the time domain, measured (blue) and reconstructed (red) ; large and small time scales (left and right respectively).

on Z_m . As a consequence, an evaluation of I_m with V_i and Z is much more accurate than an evaluation with V_{LFP} , H_m and Z . Thus, most of the inaccuracy of current evaluation from LFP recordings comes from the low signal-to-noise ratio in extracellular recordings. Although the phases of the reconstructed signals are very noisy in most cases, the moduli are much less sensitive to this SNR problem. Hence, in the general case, we reconstruct the moduli and only consider phases if they are not too noisy. Time domain reconstructions need a phase with high SNR and thus were only possible in few cases with our data.

General case

Nevertheless, in the general case (e.g. electrode array recordings), one only has access to V_{LFP} and neither Z nor H are known. Thus, we evaluated these measured quantities by the previously described models in the evaluation of the modulus of I_m (see Methods). The method being rather naive, we expected that the resistive and diffusive models would fail at predicting the measured modulus of the membrane current (fig. 4.4.5A) ; nevertheless, the diffusive-shunt model yields a surprizingly accurate precision of this modulus (fig. 4.4.5B).

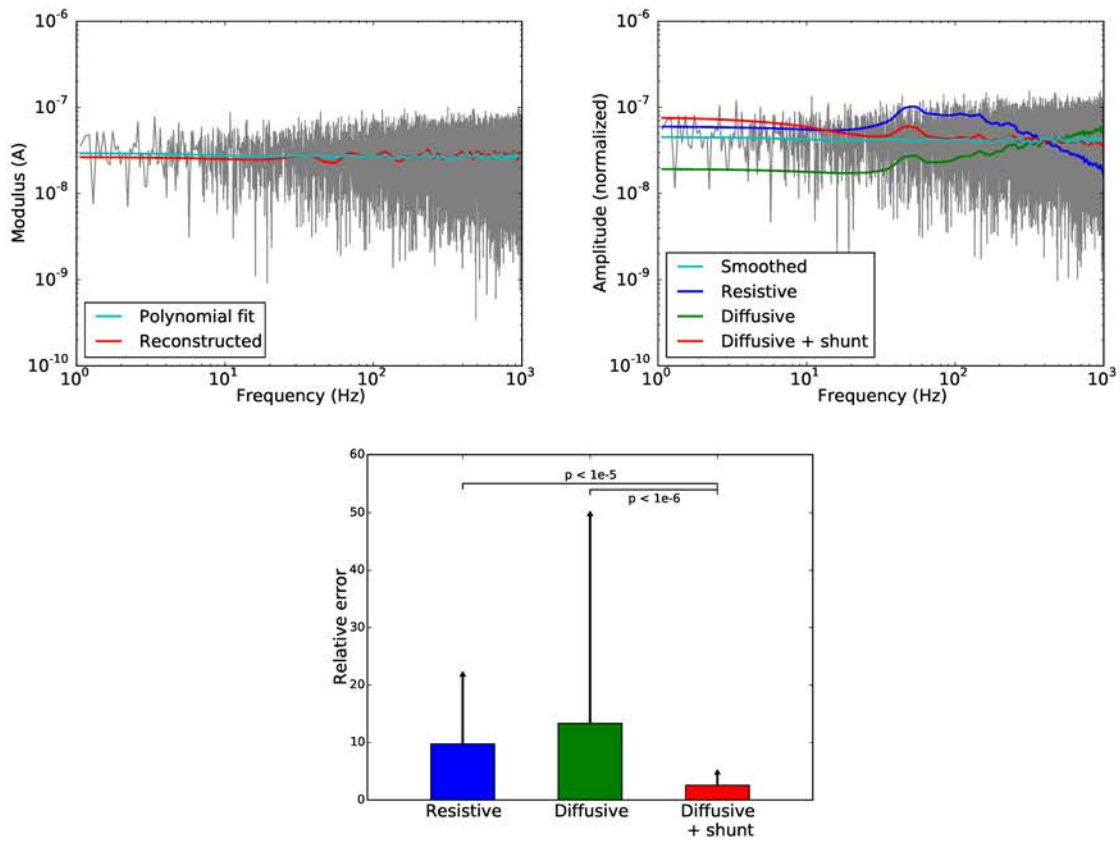


FIGURE 4.4.5 – Reconstruction of the modulus of membrane currents from the LFPs only. The measured modulus (grey) was smoothed (cyan). **Top left.** Comparison between the measured modulus and a reconstruction with previously measured Z and H (in red). **Top right.** Comparison between the measured modulus and the predictions of different models of the extracellular medium : resistive (blue), diffusive (green) and diffusive with a shunt (red). **Bottom :** statistical comparison of the goodness of models.

4.5 Discussion

For clarity purposes, all operations performed here on experimental signals are summed up in figure 4.3.1.

4.5.1 Recording and characterizing the transfer function

Recording technique. We measured the transfer function *in vitro* by injecting white noise, subthreshold current in neurons, in whole-cell patch-clamp configuration, and recording the LFP produced at a distance. Spontaneous activity being very scarce in slices, combining averaging with this configuration was convenient to record the LFP due to a single neuron and establish an univocal relation between intra- and extracellular potentials. In the past, simultaneous intra- and extracellular recordings had been performed (e.g. Freygang et al. 1958), but they were limited to the description of stereotypical fields reflecting spike activity. The contribution to spikes to LFPs being modest (Buzsáki et al. 2012), we focused on subthreshold, linear activity similar to the main sources of LFPs.

Roles of return currents. *In vivo*, whenever a plasma membrane locally behaves as a current source, current sinks are formed in the vicinity and tend to restore local electro-neutrality by evoking so-called “return currents”. In this configuration, the smallest unit of activity in a neuron is thus bipolar; if the recording location is close, the superposition of two monopolar sources with $1/r$ spatial attenuation is clearly visible. Seen from farther away, these opposite sources nearly cancel out and the field decreases as $1/r^2$ (Nunez et al. 2006; see also Bédard et al. 2010 for a discussion on the spectrum seen by single or double electrodes).

In the configuration used here, the source is the tip of the pipette inside the soma, and the only sink is the ground, away from the slice. The extracellular potentials that we record result from a monopolar source where the field decreases as $1/r$ (“open circuit” configuration, opposing the previously described “closed circuit”). Return currents are not allowed because of the univocal electrical potential gradient. As discussed in Bédard et al. (2013), the electrical equivalents and predictions associated to both configurations are different. It is not known yet which model is closest to describing physiological situations, which is probably a combination of both. Another possible bias is that these return currents likely undergo dendritic filtering (Lindén et al. 2010); the recording configuration might yield a biased reflection of the “physiological” transfer function.

Yet, two arguments plead in favor of the results obtained here. First, extracellular recordings are performed very close to the source (about 20 μm) and thus would still see two monopoles if the somatic currents were spontaneous. Second, the effect of a monopole seems to be well described by one of our models, which would be a good start for the description of dipoles.

4.5.2 Comparison against previous estimations and models

Characterizing the transfer function. From the 40s onwards, similar experiments were mostly analyzed in the time domain, where several time derivatives are superposed in re-

corded potentials. We worked in the frequency space, where phenomena are linear, which greatly simplifies both formalism and interpretations.

Recording and computing the transfer function H for 21 cells allowed us to extract its main features, that are consistent across cells. The modulus of H is flat between 1 and 10-20 Hz, and rises with a roughly constant slope between 10-20 and 1000 Hz. This slope is almost always positive (except in one cell) in log-log space, and comprised between +0.4 and +0.6 in two thirds of the cells. Although the phase was very noisy, in most cells it rose from 0 degrees to a maximum of about 30-45 degrees between 1 and 20 Hz, before a slow decay.

The resistive model was unable to match either of those curves in any cell, predicting a +1 slope and a phase rising to 90 degrees. The purely diffusive model is not better in terms of modulus, predicting a null slope, but somewhat reflects the dynamic of the phase. The diffusive-shortcut model is significantly better in predicting the modulus, with a +0.5 slope taking off at about 20 Hz; these predictions are compatible with the observed phase, although not perfectly adjusted (off by 5-10 degrees on one or two decades for example).

For comparison, there is to our knowledge a single similar analysis in the literature, that was performed by Bédard et al. (2010) on *in vivo* recordings in the barrel cortex of rats. The modulus of the transfer function was flat or with small slope (+0.1 to +0.5) below 1000 Hz, and noisy - probably due to spontaneous activity *in vivo*. Phase information was not shown, as the authors focused mainly on explaining the frequency scaling of LFP spectra. Among others, resistive and diffusive models were compared to the computed transfer functions, and their diffusive model was “always markedly better” at explaining the spectra of H in different cells. This diffusive model had mostly flat modulus (like our purely diffusive model), but with a marked positive slope (+1) *under* 20 Hz. Further comparison with our results is rendered difficult by the differences in recording methods (sharp versus patch, distance between LFP electrode and soma, silicon electrodes versus glass pipette) and the fact that these previous experiments were carried *in vivo*, on spontaneous activity.

Applications. The transfer function provides insight on the electrical nature of brain tissue, sensed through some of its most relevant components : neurons. The results presented here suggest that the transfer function relating intra- and extracellular potentials is an interesting tool :

- when predicting LFPs (direct problem). While the spectrum of the extracellular signals remains at the center of debates (Baranauskas et al. 2012 ; Bédard et al., 2006a), the transfer function allows its prediction. In the general case - when H can't be measured, a rather simple model gives a rather accurate estimation of this spectrum from transmembrane currents.
- when exploiting the rich information carried by LFPs to reconstruct the modulus of membrane currents (inverse problem). This can be done with good accuracy if one relies on the diffusive-shunt model.

4.5.3 Physical interpretations

H is a function of the extracellular impedance. The resistive model is unable to capture it in any cell, which evidences the frequency dependence of the medium. Previous measurements of natural impedance (Gomes et al., 2015) were also incompatible with the traditional “resistive” view of the cerebral cortex (low extracellular resistance R_e with little to no frequency dependence). A “diffusive model” accounted well for these measurements, by taking into account ionic diffusion in the circulation of extracellular currents, under the form of a diffusive component scaling in frequency as $1/\sqrt{\omega}$ and known as “Warburg impedance”. Yet, interpreting the frequency dependence of the extracellular medium by ionic diffusion alone is not enough. The “diffusive-shunt” model captures well most experimental results ; we propose here a simple physical interpretation.

In some experimental configurations, electric currents seem to behave as if there was a “shunt” between LFP and reference electrodes. As suggested by Robinson (1968) and Schwan (1968), electrode implantation can push brain tissue away, resulting in the formation of a thin conductive layer of extracellular fluid. The low resistivity and weak frequency dependence of this layer could shunt the strong Warburg-like impedance of the extracellular medium, draining currents towards the ground. In whole-cell patch-clamp configuration, these current leaks would be strongly limited because of the very high impedance of the seal. This configuration forces the injected currents through the entire neuron (away from the putative low-resistance path), which mimics the physiological configuration, and allows the observation of a strong, diffusive extracellular impedance (Gomes et al. 2015).

At the moment, this interpretation is no more than an educated guess, but seems coherent with our observations and other data in the literature. So far, it is the simplest explanation for our data, but there might be a better model and the interpretation may be inexact. The next section previews an experiment that could test it.

4.5.4 Open problems

Testing the shunt hypothesis

In order to further test this hypothesis, we propose the following experimental setup. First, a stimulating pipette is implanted in a brain slice perfused by ACSF. Second, a ring of silver-silver chloride of controlled potential V_r is laid on the surface of the slice, bathing in the ACSF, around the stimulating pipette. Third, currents are injected and V_{pip} (the resulting “LFP”) is fed to a voltage follower that sets $V_r = V_{pip}$ (fig. 4.5.1). This configuration would prevent currents to flow from the tip of the pipette into the “shunt”, by lack of potential gradient.

To be conclusive, this experiment has to achieve great precision. If we consider the error δ made by the voltage follower : $V_r = V_{pip} - \delta$ then we have :

$$i = i_W + i_R \quad (4.5.1)$$

$$V_{pip} = V_r + \delta \quad (4.5.2)$$

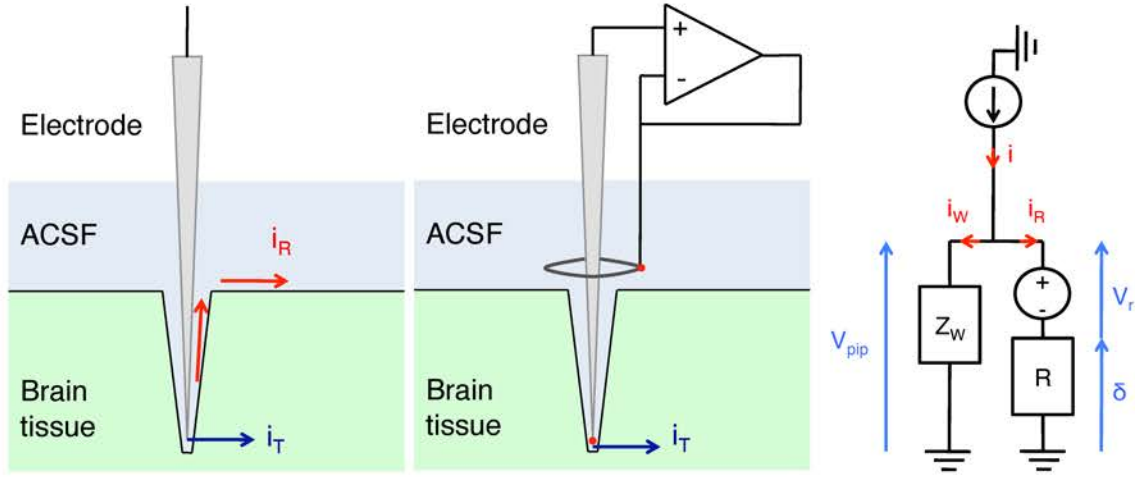


FIGURE 4.5.1 – Experiment to test the presence of a shunt. **Left** : When an electrode is stuck in brain tissue to inject a current, this current flows in the tissue (i_T) and in a nearly-resistive fluid layer (i_R). **Center** : setup where a voltage follower imposes the same potential to both ring and electrode (red dots), preventing currents from flowing in the fluid layer and forcing them into brain tissue. **Right** : equivalent circuit of this setup. The round shapes with an arrow and +/- signs are respectively current and voltage sources.

The experiment is a success if and only if $i_R \ll i_W$, which equates to :

$$\frac{\delta}{R_{ACSF}} \ll \frac{V_{pip}}{Z_W} \quad (4.5.3)$$

$$\delta \ll V_{pip} \frac{R_{ACSF}}{Z_W} \quad (4.5.4)$$

From previous experiments, we can estimate that $R_{ACSF}/Z_W \lesssim 10^5/10^8$. It is tempting to compensate for that constraint on the error by setting V_{pip} at strong values. Nevertheless, the goal of the experiment is to evaluate fine, physiological effects that could be missed by setting the extracellular potential to unreasonable values (e.g. greater than 10 mV), yielding current densities that make no sense. This reasonable maximum value of 10 mV for V_{pip} yields $\delta \approx 0.1$ mV. This can only be achieved by a high-precision apparatus because of two main difficulties :

- by definition, a silver-silver chloride ring is very conductive ; the smallest error on the currents injected in the ring to maintain its potential can yield significant voltage errors.
- the voltage follower has to be very fast to limit the delay between V_{pip} and V_r .

Thus, controlling the potential of the ring with accuracy requires specific, very accurate equipment.

Perspectives

Although the system is generally linear in frequencies (Gomes et al. 2015), this formalism is valid in subthreshold regime only, as non-linear phenomena happen within action potentials. Fortunately, LFPs are mainly a reflection of slow events (Buzsáki et al. 2012),

so spike activity should not significantly alter the prediction capacity of the transfer function. Thus, we can hope to extend the formalism to the general case in the medium term.

In addition, the phase information of H is very noisy in recordings ; if smoothing allowed to recover some information for comparison against models, this was not enough for time domain reconstruction. Designing and performing experiments with better signal-to-noise ratio (more averaging, higher impedance headstages...) should allow to enhance greatly the reconstruction of current source densities, in particular in the time domain. Also, better precision on the modulus and any significant phase information are of importance for further testing and refining of the “diffusion-shunt” model presented here. It is noteworthy that increasing the impedance of the extracellular recording pipette ($\approx 12 \text{ M}\Omega$) seems to yield a much better SNR (including a readable phase), but at the expense of a huge distortion of the signal (figure 4.5.2). This is to be expected since different measurement systems provide different angles of view on the same phenomenon. These cells were excluded from every analysis presented above, since they were recorded with significantly different pipettes.

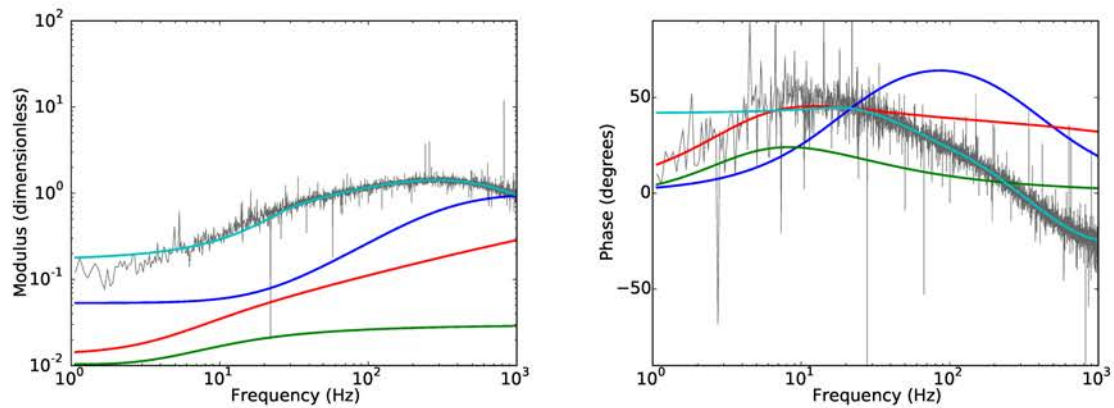


FIGURE 4.5.2 – The transfer function of a cortical cell, *in vitro*. **Left, Right** : Modulus and phase of V_{LFP}/V_{intra} as a function of frequency, in grey. The colored curves are respectively : in blue, a resistive model; in green, a model including ionic diffusion; in red, a model including ionic diffusion and a possible shunt in measurements.

Finally, in the experimental configuration used here, the recorded neuron acts as a monolithic current source (or sink), the ground being its counterpart (respectively sink or source). From the point of view of the slice, this is an “open circuit” configuration (see Bédard and Destexhe, 2013). In such a case, there can be no return currents, contrary to physiological situations. The importance and implications of this potential inadequacy should be addressed in further studies.

Conclusion

The purpose of the methods exposed here is to test the validity of the traditional resistive framework used in LFP modeling, and evaluate the impact that a more complex representation of the extracellular medium has on these predictions. We show that accounting for ionic diffusion and an apparent shunt can help solving direct and inverse problems. The models developed here reevaluates the usual hypothesis of CSD evalua-

tion that the extracellular medium is resistive, and could help enhancing the accuracy of the usual CSD evaluation strategies. A complete method for LFP modeling is in preparation as a follow-up of these findings.

4.6 Références

- [1] Cleveland, W. (1979). Robust Locally Weighted Regression and Smoothing Scatterplots. *J. Amer. Stat. Assoc.* 74 (368) : 829-836.
- [2] Baranauskas, G., Maggiolini, E., Vato, A., Angotzi, G., Bonfanti, A., Zambra, G., Spinelli, A. and Fadiga, L. (2012). Origins of $1/f^2$ scaling in the power spectrum of intracortical local field potential. *J. Neurophysiol.* 107 (3) : 984-994.
- [3] Bédard, C., Kröger, H. and Destexhe, A. (2004). Modeling extracellular field potentials and the frequency-filtering properties of extracellular space. *Biophys. J.*, 86 (3) : 1829-1842.
- [4] Bédard, C., Kröger, H. and Destexhe, A. (2006). Does the $1/f$ frequency scaling of brain signals reflect self-organized critical states? *Phys. Rev. Letters*, 96 (7) : 2589-2603.
- [5] Bédard, C., Kröger, H. and Destexhe, A. (2006). Model of low-pass filtering of local field potentials in brain tissue. *Phys. Rev. E*, 73 (5) : 1-15.
- [6] Bédard, C. and Destexhe, A. (2009). Macroscopic models of local field potentials and the apparent $1/f$ noise in brain activity, *Biophys. J.* 96 (7) : 2589-2603.
- [7] Bédard, C., Rodrigues, S., Roy, N., Contreras, D. and Destexhe, A. (2010). Evidence for frequency-dependent extracellular impedance from the transfer function between extracellular and intracellular potentials. *J. Comp. Neurosci.* 29 (3) : 389-403.
- [8] Bédard, C. and Destexhe, A. (2013). Generalized cable theory for neurons in complex and heterogeneous media. *Phys. Rev. E* 88 (2) : 041909.
- [9] Freygang, W. and Frank, K. (1958). Extracellular potentials from single spinal motoneurons. *J. Gen. Physiol.* 42 (4) : 749-760.
- [10] Gomes, JM., Bédard, C., Venance, L., Nelson, M., Khokhlova, V., Pouget, P., Bal, T. and Destexhe, A. (2015). Submitted.
- [11] Henrie, J. and Shapley, R. (2005). LFP power spectra in V1 cortex : the graded effect of stimulus contrast. *J. Neurophysiol* 94 (1) : 479-490.
- [12] Hubbard, J., Llinás, R. and Questel, D. (1969). Electrophysiological analysis of synaptic transmission (19) Williams Wilkins Company.
- [13] Katzner, S., Nauhaus, A., Benuci, A., Bonin, V., Ringach, D. and Carandini, M. (2009). Local origin of field potentials in visual cortex, *Neuron* 61 (1) : 35-41.
- [14] Lindén, H., Pettersen, K., and Einevoll, G. (2010). Intrinsic dendritic filtering gives low-pass power spectra of local field potentials. *J. Comput. Neurosci.* 29 (3) : 423-444

- [15] Lindén, H., Tetzlaff, T., Potjans, T., Pettersen, K., Klas, H., Grün, S., Diesmann, M. and Einevoll, G. (2011). Modeling the spatial reach of the LFP. *Neuron* 72 (5) : 859-872.
- [16] Mitzdorf, U. (1985). Current source-density method and application in cat cerebral cortex : investigation of evoked potentials and EEG phenomena. *Phys. rev.*, 65 (1) : 37-100.
- [17] Nunez, P., and Srinivasan, R. (2006). *Electric fields of the brain : the neurophysics of EEG*. Oxford university press.
- [18] Pesaran, B., Pezaris, J., Sahani, M., Mitra, P. and Andersen, R. (2002). Temporal structure in neuronal activity during working memory in macaque parietal cortex. *Nature neuroscience* 5 (8) : 805-811.
- [19] Pettersen, K. and Einevoll, G. (2008). Amplitude variability and extracellular low-pass filtering of neuronal spikes. *Biophys. J.* 94 (3) : 784-802.
- [20] Robinson, D. (1968). The electrical properties of metal microelectrodes. *Proc. IEEE* 56 (6) : 1065-1071.
- [21] Scherberger, H., Jarvis, M., and Andersen, A. (2005). Cortical local field potential encodes movement intentions in the posterior parietal cortex. *Neuron* 46 (2) : 347-354.
- [22] Schwan, H. (1968). Electrode polarization impedance and measurements in biological materials. *Ann. N-Y Acad. Sci.*, 148 (1) : 191-209.
- [23] Zheng, Y., Luo, J., Harris, S., Kennerley, A., Berwick, J., Billings, S. and Mayhew, J. (2012). Balanced excitation and inhibition : Model based analysis of local field potentials. *NeuroImage* 63 (1) : 81-94.

Chapitre 5

Discussion

*« Il n'y a rien de plus pratique qu'une
bonne théorie. »*

Kurt Lewin

Sommaire

5.1 L'impédance naturelle	119
5.1.1 Conséquences de l'activité neuronale dans le milieu extracellulaire	119
5.1.2 Principaux facteurs affectant le filtrage fréquentiel	120
5.2 La fonction de transfert	122
5.2.1 Un outil pour mieux comprendre les LFP	122
5.2.2 Impédance du milieu extracellulaire vue par différents systèmes	124
5.3 Réévaluation des méthodes et conclusions traditionnelles	127
5.3.1 Interprétation des mesures précédentes	127
5.3.2 Conséquences sur les stratégies de calcul de la CSD	128
5.3.3 Problèmes ouverts	129
5.4 Références	135

Ce chapitre résume les résultats présentés lors des chapitres précédents, et les replace dans le contexte des travaux publiés dans le domaine. Une première section traite de l'impédance naturelle (chapitre 2) ; une deuxième discute de la fonction de transfert. Enfin, la dernière section propose une synthèse des questions et problèmes ouverts par la combinaison des résultats présentés, du cadre théorique dans lequel ils sont interprétés, et plus généralement de la littérature existante.

5.1 L'impédance naturelle

5.1.1 Conséquences de l'activité neuronale dans le milieu extracellulaire

Depuis les années 1940, de nombreux auteurs ont essayé de caractériser des LFP stéréotypés, générés par l'activation antidromique d'un ou plusieurs neurones (voir par exemple LORENTE DE NÓ [28] ; HUBBARD et collab. [15] pour une revue). Certains auteurs ont été les précurseurs de l'établissement d'une fonction de transfert entre potentiels intra- et extracellulaire [8]. Ces études ont permis d'établir quelques concepts intéressants comme les champs ouverts ou fermés, mais sont limitées par leur aspect très empirique et la rareté des informations sur une géométrie locale variant entre les expériences. Par rapport à ces études, la méthode de mesure développée ici s'affranchit de quatre problèmes majeurs. Premièrement, l'activité neuronale n'est pas suscitée par un potentiel d'action dont on sait qu'il contribue peu au spectre des LFP ; cette activité peut être contrôlée avec précision dans la bande de fréquences des LFP, en restant dans le domaine subliminaire linéaire. Deuxièmement, les raisonnements ne se font pas en termes de potentiel (difficilement reproductible) mais en termes d'impédance, qui est un invariant physique. Troisièmement, les études traditionnelles se placent dans le domaine temporel. L'interprétation des LFP suscités se fait alors en termes de phases positives et négatives et de dérivées temporelles superposées [36] ; dans l'espace de Fourier utilisé ici, le formalisme est simplement linéaire. Enfin, la résistivité du milieu varierait en fonction de l'activité : une stimulation répétitive à 4-5 Hz durant une trentaine de secondes modifie la résistivité locale (de 20 à 60 % environ, dans l'hippocampe), ce qui biaise la mesure [23]. Ces modifications de la résistivité seraient essentiellement dus aux changements de concentrations ioniques suite aux potentiels d'action évoqués, causant un gonflement local des cellules - bloquant ainsi certains chemins pour les courants de charge libre [9, 23]. L'utilisation de faibles courants en régime linéaire dans la mesure d'impédance naturelle permet de limiter ces phénomènes.

La mesure de l'impédance du tissu cérébral révèle des caractéristiques très différentes selon le système de mesure. En se plaçant dans le cadre théorique développé notamment par Bédard et Destexhe, il devient possible de résoudre ces contradictions apparentes, notamment grâce au concept d'impédance naturelle.

L'utilisation d'un neurone comme « instrument de mesure » de l'impédance extracellulaire permet d'éliminer le problème traditionnel de l'interface entre l'électrode et le milieu, puisque l'interface neurone - milieu extracellulaire est physiologique. Lorsqu'un neurone est actif en régime subliminaire, les courants suscités sont filtrés par une impédance composée d'un circuit RC parallèle (la membrane plasmique) en série avec une impédance de la forme $Z_W(\omega) = \frac{A+iB}{1+\sqrt{\omega/\omega_W}}$ (voir figure 2.2). Le module de cette impédance de

Warburg est comparable à celui de l'impédance membranaire (typiquement d'une centaine de $M\Omega$) lorsque $\omega \ll \omega_W$; la dépendance en fréquence de l'impédance naturelle et de Z_W sont proches.

Cette impédance de Warburg peut être interprétée comme le reflet d'une importante diffusion ionique dans le milieu extracellulaire, confirmant l'hypothèse de GABRIEL et collab. [11] et BÉDARD et DESTEXHE [3] selon laquelle ce phénomène n'est pas négligeable entre 1 et 1000 Hz dans le milieu extracellulaire, en conditions physiologiques. L'impédance rencontrée par les courants entrant ou sortant d'un neurone est donc considérablement supérieure aux valeurs admises dans le cadre du modèle classique et résistif (typiquement 20 $M\Omega$) De plus, sa dépendance en fréquence en $1/\sqrt{\omega}$ n'est pas négligeable, ce qui est incompatible avec un milieu homogène d'après 1.10 ; l'hétérogénéité microscopique du milieu extracellulaire ne peut être négligée [25]. En revanche, les effets de l'hétérogénéité microscopique sont bien approximés par une conductivité et une permittivité macroscopiques (*i.e.* renormalisées) mais dépendantes de la fréquence [3].

On peut alors imaginer le scénario suivant lorsqu'un neurone est actif :

1. Un événement quelconque conduit à la libération de charges par le neurone dans le milieu extracellulaire, par exemple des charges positives (source de courant).
2. Cette rupture locale de l'électroneutralité génère un champ électrique, dont l'effet est double : il polarise les charges liées (effet négligeable entre 1 et 1000 Hz) et met en mouvement les charges libres alentour.
3. En l'absence d'obstacle et de champ magnétique significatif, les charges électriques libres suivent les lignes de champ électrique, qui sont indépendantes de la géométrie locale du point de vue macroscopique. Ceci conduit à l'accumulation de charges contre les obstacles microscopiques (principalement des membranes plasmiques).
4. Les concentrations ioniques tendent alors à s'homogénéiser spontanément, ce qui modifie la distribution et le flux des charges, et par ricochet le champ électrique.

En rapprochant les équations microscopiques 1.17 et 1.16, il devient évident que ce scénario revêt une importance différente selon la fréquence des courants concernés. Macroscopiquement, cela se traduit par la structure en $1/\sqrt{\omega}$ de l'impédance de Warburg observée expérimentalement, et dans les observations rapportées par GABRIEL et collab. [11] : « [le comportement de la permittivité aux basses fréquences] est associé à des processus de diffusion ionique au niveau de la membrane cellulaire ».

5.1.2 Principaux facteurs affectant le filtrage fréquentiel

Les couches de Debye. Il existe un fort champ électrique à travers les membranes plasmiques au repos : 60 mV pour 7×10^{-9} m, soit un champ de l'ordre de 1×10^7 V m⁻¹. Ce champ est maintenu grâce à l'imperméabilité aux ions des membranes lipidiques, et à l'activité des Na/K-ATPases ; il résulte des accumulations de charges ioniques de part et d'autre de la membrane, appelées couches de Debye. Cette accumulation sur une distance de l'ordre du nanomètre peut être considérée comme un gradient de conductivité drastique, ce qui en fait un bon candidat au filtrage des courants transmembranaires d'après 1.16.

Le comportement électrique de ces couches peut être évalué grâce à la physique statistique. On peut estimer que les ions (positifs et négatifs) soient répartis de part et d'autre

de la membrane selon une distribution de Boltzmann, lorsque la membrane est au repos ou en régime subliminaire. Une approximation linéaire du potentiel généré par ces distributions ioniques permet de retrouver l'expression d'une impédance de Warburg [4]).

La tortuosité et la composition du milieu extracellulaire. ROBINSON [33] a remarqué que si l'on suit les prédictions du modèle résistif de RALL [31], la pointe d'une électrode placée dans le cortex devrait enregistrer les potentiels d'action d'environ 70 à 230 cellules ; or seule une faible fraction de ce nombre est observée expérimentalement. Il suggère que les courants dendritiques « circulent principalement dans des canaux très tortueux en allant au soma. Si la pointe de l'électrode est dans un tel canal il se peut qu'elle enregistre bien, mais si elle est dans une cellule gliale adjacente elle n'enregistrera presque rien même si cette cellule gliale est adjacente à un gros neurone ». Les observations de NICHOLSON et SYKOVÁ [26] puis SYKOVÁ et NICHOLSON [35] tendent à confirmer que le milieu extracellulaire est très tortueux et comporte de nombreuses impasses. Ce facteur pourrait être crucial dans la formation d'inhomogénéités de concentration conduisant à la diffusion ionique. De plus, les mêmes auteurs proposent que « les charges négatives fixées sur la matrice extracellulaire pourraient affecter la diffusion des molécules chargées ».

L'intensité du courant. L'impédance d'un composant idéal est indépendante du courant et du voltage appliqués. En pratique, des limitations matérielles restreignent cette approximation à un domaine de validité. Par exemple, un fusible (résistance) soumis à une intensité trop élevée fond, et sa résistance diminue fortement. Dans les milieux biologiques, une multitude de phénomènes contribuent à favoriser ou empêcher la propagation des courants, et leur importance relative (voire leur existence) varie en fonction de la densité de ces courants (voir par exemple SCHWAN [34]). Dans ce contexte, un modèle de l'impédance n'est pertinent que dans une gamme de densité de courant déterminée.

Pour des densités de courant très faibles : L'impédance de Warburg pourrait disparaître (pour une dizaine de pA et en-deçà), et on retrouverait un comportement proche du modèle résistif. De tels enregistrements ont été réalisés et semblent être compatibles avec cette hypothèse, mais leur précision trop limitée ne permet pas de conclure pour l'instant.

Pour des densités de courant très fortes : en conditions physiologiques, une accumulation locale de charges relativement importante est dissipée spontanément à travers les canaux passifs et via des courants latéraux. En revanche, on peut imaginer que l'injection de courants de plusieurs μA pourrait exercer une force importante sur les membranes alentour, au point de ménager des canaux de fluide extracellulaire suivant les lignes de champ. Dans le chemin homogène ainsi ménagé, l'impédance observée diminuerait alors fortement et sa dépendance en fréquence serait réduite. De plus, l'injection de courants très forts induit des effets non-linéaires en voltage, rendant le concept même d'impédance inopérant faute de linéarité en fréquence. Ces éléments peuvent expliquer, au moins en partie, les résultats présentés par LOGOTHETIS et collab. [22] (voir aussi GEDDES [13]).

Les dendrites. L'impédance observée par un neurone ne peut être expliquée dans un modèle résistif à un seul compartiment. L'ajout d'un compartiment dendritique au mo-

dèle résistif (neurone « *ball-and-stick* » classique de Rall) ne peut remédier à cette insuffisance (pente du module trop importante, et phase peu réaliste). Les meilleures approximations sont obtenues au prix de cylindres équivalents d’une longueur d’au moins une centaine de mètres ; or les cellules pyramidales patchées ont un arbre dendritique modérément développé, ce qui rend une telle longueur équivalente irréaliste pour un arbre mesurant environ 1 mm (et dont la longueur électrotonique effective serait encore trois fois moindre, comme le suggèrent JACOBSON et POLLEN [17] et NUNEZ et SRINIVASAN [29]). En revanche, la présence de dendrites affecte peu les prédictions des modèles diffusifs, ce qui est cohérent avec une forte impédance du milieu extracellulaire limitant la sortie de courants au niveau des ramifications.

La configuration d’enregistrement. Lors des enregistrements présentés au chapitre 2, le neurone entier agit comme un « monopôle », c’est-à-dire une source de courant qui ne correspond pas à un puits voisin dans la tranche, contrairement aux sources physiologiques. Le voisinage étant silencieux en tranche (ou son activité étant effacée par moyennage *in vivo*), le rôle du puits de courant est joué par la masse, qui se situe loin de la tranche. Il ne peut donc y avoir de courants de retour dans la tranche dans cette configuration (le « retour » se fait par l’électrode et l’amplificateur relié à la masse), ce qui pourrait conduire à sous-estimer le filtrage dendritique se produisant en conditions physiologiques (voir ci-dessus).

5.2 La fonction de transfert

5.2.1 Un outil pour mieux comprendre les LFP

Sens physique de la fonction de transfert. Par définition, les événements contribuant à la formation des LFP sont principalement de basse fréquence ; dans ce domaine, les phénomènes physiques obéissent à des lois linéaires en fréquence, y compris *in vivo* (fig. 2.2D). La connaissance de la fonction de transfert définie par $H(\omega) = V_{\text{LFP}}(\omega)/V_i(\omega)$ permet alors de simplifier considérablement l’analyse de la dynamique temporelle des LFP. Les principaux résultats obtenus au chapitre 4 sont résumés et commentés ci-après.

Structure de la fonction de transfert. Expérimentalement, on trouve la structure suivante pour le module de H :

$$|H(\omega)| \propto \frac{1}{1 + \frac{k}{\sqrt{i\omega}}}$$

Cette forme semble être corroborée par la phase observée, malgré un niveau de bruit élevé. Aucune des observations expérimentales réalisées ne peut être expliquée par le modèle résistif. En revanche, cette expression comporte une composante fortement analogue à une impédance diffusive, mais le modèle diffusif seul ne suffit pas à l’expliquer (voir 5.2.2). Ceci vient renforcer l’hypothèse de BÉDARD et DESTEXHE [4], selon laquelle les équations de câble du modèle de Rall doivent être généralisées, car elles ne sont valables que pour un milieu ohmique.

Intérêt pour le problème direct. Lorsque H est connue, elle permet d'obtenir une estimation qualitative du spectre du « LFP unitaire » généré par l'activité d'un neurone, ce qui peut être testé expérimentalement. La mesure de H permet d'évaluer l'état d'avancement d'une théorie décrivant le comportement électrique du milieu extracellulaire, ce qui est l'objectif du chapitre 4. Le modèle DCC (diffusif-court-circuit) permet de mettre en évidence l'importance des propriétés complexes du milieu extracellulaire.

De plus, les LFP étant additifs, ce modèle pourrait estimer le spectre des LFP généré par une vaste assemblée de neurones ayant une activité similaire dans les basses fréquences - comme dans le sommeil à ondes lentes.

Le modèle développé au chapitre 3 est plus délicat à confronter directement à l'expérience car il prend en compte explicitement la géométrie des neurones ; toutefois il se base sur les hypothèses confortées par les chapitres 2 et 4. L'intérêt de ce modèle est son niveau de détail, très supérieur à celui du modèle DCC. En particulier, la morphologie et les afférences synaptiques sont modélisées explicitement. Ceci permet une prédiction fine des variations spatiales des LFP, en module et en phase. Étendu à un grand nombre de neurones à l'activité complexe et diversifiée, ce modèle pourrait être un outil puissant pour expliquer les LFP observés lors de l'éveil. Les premières simulations obtenues grâce à ce modèle permettent d'entrevoir des prédictions intéressantes :

- La principale contribution aux LFP proviendrait de l'activité provoquée par les synapses inhibitrices.
- Les fluctuations de voltage des membranes (« sources de tension ») contribuent bien moins au LFP que les courants transmembranaires (« sources de courant ») dans un milieu résistif. Toutefois, ces deux mécanismes pourraient coexister en milieu diffusif.
- La densité spectrale de puissance des LFP diffère selon les modèles du milieu retenus. Les simulations actuellement en cours permettront de confronter ces résultats aux observations expérimentales *in vivo* et aux résultats théoriques obtenus précédemment [3].
- Ces simulations permettront également d'affiner les prédictions concernant les résonances membranaires, dans le cas d'un milieu diffusif.

Intérêt pour le problème inverse. Si l'impédance naturelle Z et la fonction de transfert H peuvent être mesurées, il devient possible de reconstruire l'activité du neurone d'après le LFP mesuré (méthode de CSD) ; la fonction de transfert est donc porteuse d'une information riche et exploitable. Cependant, le cas le plus fréquent est également le plus difficile :

- on a affaire à de multiples neurones actifs (contrairement aux tranches presque silencieuses *in vitro*).
- le régime n'est pas subliminaire dans le cas général ; toutefois, si on ne considère que les bandes de basse fréquence, l'influence des potentiels d'action est minime.
- ni Z ni H ne sont connues dans le cas général.

Faute de pouvoir connaître la cartographie exacte des propriétés électriques de la région, il est donc nécessaire de s'en remettre à des modèles des neurones et du milieu extracellulaire [24, 30]. Afin d'évaluer la capacité de prédiction des modèles de Z et H développés ici, indépendamment des autres difficultés expérimentales, un cadre simple a été choisi : une seule source de courant en régime subliminaire.

Le modèle résistif « classique » s'avère impuissant à reconstruire le module de la source de courant (fig. 4.4.5) ; le modèle diffusif, pourtant plus efficace pour décrire l'impédance naturelle, réalise des performances médiocres dans cet exercice. Un troisième modèle, noté « diffusif avec court-circuit » (DCC), considère que l'impédance diffusive vue par le neurone est en série avec une impédance résistive vue par la pipette de LFP - c'est-à-dire qu'il existe un chemin de faible résistance entre la pipette de LFP et la masse, « court-circuitant » l'impédance de Warburg élevée ; ce modèle est capable de prédire correctement la structure du module (et donc du spectre) de la source de courant.

Problèmes soulevés par les mesures. Le ratio signal/bruit (SNR) des enregistrements de LFP présentés ici est faible, ce qui introduit une incertitude importante sur la phase de la fonction de transfert, ce qui empêche pour l'instant d'obtenir une information assez complète pour reconstituer la dynamique temporelle des sources de courant. La faiblesse du LFP généré par un seul neurone, ainsi qu'un gain trop faible au niveau des têtes de pré-amplification, sont les principales causes de ce problème. L'échec des modèles résistif et diffusif, ainsi que l'interprétation physique du succès du modèle DCC, sont discutés dans la section suivante.

5.2.2 Impédance du milieu extracellulaire vue par différents systèmes

Un artefact dans la mesure des LFP ?

Lors de l'introduction d'une pipette - ou d'une électrode - de mesure du potentiel dans les tissus cérébraux, comme par exemple la pipette de mesure de LFP utilisée ici, le tissu subit des lésions : des cellules et des fibres sont détruites et/ou subissent d'importants déplacements. Si on retire la pipette, on observe un « puits » vide de neurones ou de fibres, rempli par le ACSF baignant la tranche *in vitro* [33]. Bien que l'observation soit bien plus délicate, la situation est similaire *in vivo* ; plus l'électrode est petite, plus le gradient de potentiel alentour sera accumulé dans le fluide alentour, et plus l'impédance observée reflète ce fluide plutôt que le tissu [34]. Il est donc possible qu'un tube de liquide extracellulaire et/ou d'ACSF de haute conductivité soit présent autour des électrodes implantées dans le tissu cérébral ; ce dernier auteur conclut que de nombreuses données sur l'impédance de tissus biologiques publiées à cette époque sont suspectées de refléter en partie le comportement de l'électrode, comme discuté au chapitre 1.

Les résultats expérimentaux concernant l'impédance du milieu extracellulaire se répartissent en deux catégories grossières, correspondant à deux interprétations et méthodologies concurrentes, exposées au chapitre 1. Il est donc important d'évaluer les effets sur la mesure de ces « espaces morts » remplis de liquide très conducteur, dans ces deux cadres..

Selon le modèle résistif, le milieu extracellulaire se comporte comme une résistance faible (environ 10-20 MΩ), et sa dépendance en fréquence est négligeable, ce qui correspond à un milieu homogène. Les espaces morts autour des électrodes correspondent à cette description, et pourraient significativement biaiser les mesures en faveur du modèle résistif. Outre Robinson, certains auteurs appuient cette possibilité : dans une communi-

cation orale, Herreras suggère que lors d'une mesure de l'impédance par la technique à quatre électrodes, « une proportion importante du courant circule hors de la tranche, à travers les couches liquides environnantes » ; l'impédance mesurée est résulte alors d'un « moyennage avec l'ACSF ». De plus, LÓPEZ-AGUADO et collab. [23] rappellent que les mesures de résistivité sont très sensibles aux espaces morts laissés par le passage de la pipette ; ce constat peut être raisonnablement étendu à la mesure de l'impédance. Ces mêmes auteurs, mesurant la résistivité en fonction de la profondeur dans les couches de l'hippocampe, proposent de le faire sans jamais remonter la pipette afin d'éviter la formation de ces espaces morts¹.

Dans le cas général, l'impédance du milieu extracellulaire peut être plus forte (de l'ordre de la centaine de $M\Omega$ pour les modèles développés en chapitre 2) et posséder une dépendance en fréquence non négligeable. Ce modèle est présenté en figure 2.2. Dans ce cas, un tube de fluide conducteur autour de l'électrode (ou de la pipette) pourrait avoir pour conséquence de court-circuiter les courants injectés, et de « masquer » l'impédance traversée par les courants en conditions physiologiques.

Sous cette dernière hypothèse, une observation rapide de Z_{e2} via l'enregistrement d'un LFP seul conduirait à la conclusion que le milieu extracellulaire est résistif. La stratégie développée dans les chapitres 2 et 4 permet de contourner ce problème, grâce au scellement de la pipette injectant le courant avec un neurone. Ainsi, l'influence d'un éventuel canal conducteur est limitée voire supprimée au niveau de cette pipette. En revanche, la pipette enregistrant le LFP n'étant pas accolée à une cellule, le potentiel qu'elle enregistre peut être largement influencé par ce court-circuit putatif. Il faut alors introduire un modèle dans lequel Z_{e1} est une impédance diffusive, et Z_{e2} est résistive. L'étude de la fonction de transfert permet de distinguer le cas de figure résistif du cas "diffusif, avec court-circuit" (voir 4.5.4).

Evaluation de l'importance d'un possible court-circuit

Une hypothèse à tester. Les résultats présentés aux chapitres 2 et 4 permettent de contester sérieusement la vision d'un milieu cérébral homogène et résistif, qui est loin de pouvoir expliquer les mesures. Le chapitre 2 propose un modèle simple, dérivé des phénomènes les plus élémentaires, décrivant l'impédance naturelle avec succès ; cependant, ce modèle est insuffisant et doit être complété. En effet, le module et la phase de la fonction de transfert H semblent exclure significativement ces deux modèles. Par exemple, la pente du module vaut environ 0.5 au-delà de 20 Hz, contre 1 et 0 pour les modèles résistif et diffusif simple. Seul le modèle dit « diffusif-court-circuit » (DCC) permet de décrire fidèlement le module de H , en étant honorablement consistant avec sa phase.

Il semble qu'un neurone « voie » une impédance diffusive alors qu'une pipette seule « voit » une résistance ; ces deux observations peuvent être réalisées simultanément dans le même dispositif, et coexister dans un même modèle. Cette contradiction apparente est résolue si l'on admet l'existence d'un court-circuit non négligeable autour de la pipette de LFP, dont l'origine et le comportement ont été exposés ci-avant.

1. Cependant, cette technique a aussi un biais : « si la pipette comprime le tissu alentour, elle pourrait comprimer l'espace extracellulaire localement de manière à détourner les courants » [33].

On peut alors interpréter les résultats du chapitre 2 comme un succès pour la stratégie du patch-clamp en cellule entière. Si un court-circuit significatif existait dans ces expériences, sa faible résistance masquerait entièrement la forte impédance qui est mesurée. La technique de mesure de l'impédance naturelle, qui *a priori* peut paraître plus complexe et moins digne de confiance que les méthodes traditionnelles, permet en réalité d'obtenir une information expurgée d'un biais majeur. De plus, l'injection de courants dans un neurone entier - outre le scellement empêchant les fuites de courant - permet de susciter des courants dans des zones éloignées de la pipette de patch grâce à l'arbre dendritique. Ainsi, même s'il existe un faible « cône de court-circuit » autour de cette pipette, l'étendue du neurone en limite les effets.

Expérience préliminaire. Plusieurs essais ont été réalisés à ce jour afin de tester l'hypothèse du court-circuit, à l'aide du dispositif présenté en fin du chapitre 4. Ces tentatives n'ont pas permis de conclure :

- Il est impératif d'imposer ce potentiel dans une zone cruciale de l'espace. Le choix d'un anneau d'argent chloruré permet d'éviter les effets de polarisation en optimisant les échanges ioniques avec la solution ; en théorie, le gradient de potentiel autour de cet anneau est très faible (car le milieu est très conducteur), ce qui permet d'imposer un potentiel quasi-uniforme dans une zone relativement étendue. Cependant, il pourrait être nécessaire de remplacer l'anneau par une fine feuille d'argent chloruré, percée en son centre d'un trou pour la pipette. Ainsi, le potentiel voulu serait imposé sur une large zone autour de la pipette, empêchant toute fuite de courant à travers un court-circuit. Cette solution également possède des biais éventuels : le potentiel imposé par une trop grande feuille pourrait perturber les lignes de champ jusque dans la tranche, et avoir des effets capacitifs importants au vu de sa surface importante.
- Une autre difficulté consiste à imposer le potentiel souhaité en temps réel. Dans le cas de l'imposition de bruit blanc, il est particulièrement difficile pour la rétroaction du système d'imposer un potentiel représenté par une courbe très hachée (dérivable en aucun point). L'imposition de potentiels sinusoïdaux pourrait pallier ce problème, bien qu'aucune différence de résultats n'ait été observée entre bruit blanc et sinusoïdes avec les moyens limités utilisés jusqu'à présent. Les basses fréquences ne sont pas concernées (la limite dépend du temps de rétroaction du système, de l'ordre de la milliseconde pour un amplificateur traditionnel de patch-clamp).
- Enfin, le point le plus délicat reste la précision du dispositif. Si la tranche possède bien une impédance élevée, le moindre gradient de potentiel dans un tube de fluide autour de la pipette peut drainer la quasi-totalité des courants injectés. D'après les estimations du chapitre 4, l'erreur tolérée devrait être de l'ordre d'un pour mille, voire moins. Ceci demande de connaître le potentiel réel de la pointe de la pipette et de le reproduire avec une grande précision, ce qui demeure l'obstacle majeur.

En conclusion, l'interprétation physique des mesures d'impédance naturelle et de la fonction de transfert doit être réalisée avec la plus grande prudence. Le modèle le plus simple qui rend compte de la grande majorité des mesures de l'impédance du tissu cérébral suppose que selon le dispositif expérimental utilisé, les courants électriques peuvent

emprunter deux principaux chemins : une impédance élevée, dépendante de la fréquence et probablement influencée par la diffusion ionique, ou une résistance faible. Les problèmes suivants demeurent ouverts :

- Le modèle « diffusion et court-circuit » semble le plus simple et le plus plausible. D'autres modèles plus réalistes peuvent-ils le remplacer ?
- Ce modèle rencontre-t-il des contradictions ou des contre-exemples ?
- S'il existe bel et bien un chemin de basse résistance et un chemin de forte impédance, quelle est leur importance relative dans les conditions physiologiques ?
- Ce modèle semble efficace pour décrire les résultats, et la théorie dont il est issu a déjà prouvé sa capacité à être prédictive. Cependant, l'intervention de diffusion ionique et de court-circuit ne sont pour l'instant que des spéculations raisonnables, devant être étayées ou infirmées par des expériences supplémentaires.

5.3 Réévaluation des méthodes et conclusions traditionnelles

5.3.1 Interprétation des mesures précédentes

Les mesures à trois [27] ou quatre [33] électrodes se contentent souvent de mesurer la résistivité (courant continu), car elles reposent sur un modèle résistif du tissu cérébral. Par exemple, LÓPEZ-AGUADO et collab. [23] évaluent la résistivité par comparaison entre les potentiels mesurés dans le tissu et dans des solutions de résistivité connue, suite à l'injection d'un courant continu de 10 à 200 nA d'amplitude ; leur modèle computationnel du milieu extracellulaire est exclusivement composé de résistances. Cette approche est utile pour améliorer les méthodes de CSD, mais ne peut que rester ignorante des phénomènes éventuels de dépendance en fréquence, de diffusion ionique, de saturation. En effet, la stratégie utilisée pour éliminer les « artefacts capacitifs » est de prolonger la durée du créneau injecté ; en chargeant et saturant les capacités intrinsèques du milieu extracellulaire, cette approche néglige voire annule leurs effets.

De manière plus générale, l'influence exacte d'un possible court-circuit biaisant les mesures de potentiel dans le milieu cérébral reste à établir. Si cette influence s'avère et est importante, de nombreuses mesures et modèles de l'impédance extracellulaire devront être reconsidérés. En particulier, trois champs principaux seraient impactés : la méthodologie de mesure de l'impédance cérébrale, la modélisation des LFP et l'évaluation de la CSD. Le modèle développé au chapitre 3 ainsi que le « câble généralisé » [4], sont très généraux par leur faible nombre d'hypothèses et constituent donc des outils de référence. L'étude et le test de leurs prédictions, en présence ou non d'un court-circuit, devront être à nouveau confrontées à l'expérience afin d'aider à résoudre les contradictions apparentes de la littérature.

Prédictions des modèles généraux. Ces modèles permettent d'évaluer l'importance du court-circuit et de certaines résonances membranaires, mais aussi la propagation des courants dans l'arbre dendritique. Par exemple, si les dendrites sont entourées d'un milieu extracellulaire de forte impédance, les courants sortent difficilement à travers la membrane plasmique et donc le gradient de potentiel est moins important le long de chaque

dendrite (si la configuration d'enregistrement est le « circuit ouvert »). Cette prédiction est intéressante à deux titres au moins :

- si l'atténuation du potentiel le long des dendrites est faible, il en résulterait des LFP plus importants que dans un milieu de faible résistance (d'un facteur trois environ, voir chapitre 3) ;
- il est envisageable de tester cette hypothèse dans un futur proche, grâce à des données déjà existantes obtenues à l'aide d'un colorant sensible au voltage. Le potentiel dendritique *in vitro* est enregistré lors d'une stimulation, avec une résolution spatio-temporelle encore inégalée jusqu'à présent. L'interprétation de ces données pourrait se révéler extrêmement intéressante pour tester les modèles généraux de l'impédance extracellulaire et de la propagation des courants dans les compartiments cellulaires. Par exemple, l'atténuation du voltage le long des dendrites est faible, ce est compatible avec une forte impédance extracellulaire [2].

Des explications alternatives ? Le modèle de Rall du neurone [31] et ses adaptations successives connaissent depuis un demi-siècle un grand succès. Une de ces adaptations a été proposée par DURAND [6], pour « prendre en compte la décroissance rapide du voltage observée suite à l'injection de crêneaux de courant dans certains motoneurones qui ne pouvaient être expliqués par les modèles existants » (voir aussi JACKSON [16]). L'interprétation de Durand repose sur la présence d'un court-circuit au niveau de la membrane du soma, consécutif aux dégâts provoqués par l'insertion de l'électrode, ou une résistivité de la membrane somatique plus faible que celle des dendrites, ces deux hypothèses étant équivalentes en termes de prédictions. Il est important de noter qu'ici, le court-circuit envisagé se situe *à travers la membrane plasmique* et non à travers le milieu extracellulaire.

Si la discussion exhaustive de ces hypothèses dépasse le cadre choisi ici, leurs prédictions peuvent être comparées à celles du modèle diffusif :

- Si la membrane est significativement endommagée au niveau du scellement, l'impédance naturelle devrait tendre progressivement vers une simple résistance. Durant ce processus, la membrane se dépolarise progressivement jusqu'à la mort rapide du neurone. Les rares cellules présentant ce comportement instable n'ont pas été retenues pour l'analyse ; la grande majorité des cellules enregistrées présentaient un potentiel intracellulaire et une impédance naturelle très stables.
- La conductivité de la membrane est uniforme dans le modèle diffusif. Cependant, la forte impédance du milieu extracellulaire rend difficile la sortie des courants dans les dendrites. D'un point de vue expérimental, cette situation est très proche d'une résistivité membranaire plus importante dans les dendrites qu'au soma.

Ainsi, le modèle diffusif pourrait contribuer à repousser les limites du modèle de Rall.

5.3.2 Conséquences sur les stratégies de calcul de la CSD

L'évaluation de la CSD est un problème sous-déterminé, dépendant de nombreuses inconnues comme la géométrie locale et la nature des sources. D'après LÓPEZ-AGUADO et collab. [23], « l'hypothèse d'homogénéité de l'espace extracellulaire pour l'analyse de la CSD conduit à des erreurs significatives dans la localisation, l'extension spatiale, et l'amplitude des courants calculés, et peut conduire à des erreurs d'identification du générateur voire même du type cellulaire ». Dans ce cas, les auteurs discutent de la résistivité et

de l'hétérogénéité microscopique ; mais cette affirmation peut aisément être étendue à l'impédance et à l'hétérogénéité microscopique.

Parmi les nombreux enjeux, on trouve les suivants :

- Une impédance extracellulaire plus forte que dans le modèle résistif usuel peut conduire à sous-estimer la distance des sources d'après l'intensité des potentiels enregistrés. Les méthodes classiques d'évaluation de la CSD reposent sur l'hypothèse d'une impédance extracellulaire faible et quasi-indépendante de la fréquence ; une nouvelle méthode doit donc être dérivée depuis les équations de Maxwell, en utilisant le concept de courant généralisé [4].
- Une des difficultés rencontrées pour le calcul de la CSD est l'approximation du laplacien du potentiel [29]. Cette dérivée spatiale seconde étant estimée via un nombre limité de points dilués dans l'espace, l'erreur est importante. La prise en compte des mécanismes proposés ici pourrait donc réduire significativement cette erreur.
- La mesure des LFP permet d'inférer l'activité neuronale alentour. Si le milieu opère un filtrage en fréquence, les conclusions sur l'activité de réseau environnante peuvent être sérieusement affectées. À l'échelle du neurone individuel, l'identification du type cellulaire à distance repose sur des patrons de décharge ; ces patrons peuvent être largement altérés et confondus, conduisant à des erreurs sur le type des sources. Par exemple, l'identification est actuellement aisée chez l'Homme, mais problématique chez d'autres Primates (B. Teleńczuk et A. Destexhe, communication personnelle).
- Le modèle d'un milieu possédant une forte impédance (par exemple diffusive) conduit à imaginer un second mécanisme contribuant aux potentiels de champs locaux. En effet, si les neurones actifs se comportent comme des sources de courant du point de vue du milieu extracellulaire, leur membrane plasmique peut se comporter comme une source de tension car son voltage varie en fonction de l'activité. Dans le modèle traditionnel, les courants se propagent loin et les gradients de potentiel sont rapidement dissipés avec la distance car la résistance extracellulaire est faible : ainsi, les LFP sont uniquement dus à la propagation des courants (probablement issus des compartiments synaptiques, voir chapitre 1). En revanche, dans un milieu d'impédance forte, cette impédance dissipe les courants et favorise la propagation lointaine des champs électriques. Ainsi, l'importance relative de ces deux mécanismes pourrait être très différente en fonction du modèle retenu. Si cela s'avérait, les modèles de CSD devraient être complétés et révisés en profondeur.
- Un éventuel court-circuit affectant les mesures de certaines électrodes de LFP pourrait fausser les résultats de la CSD, en dissipant les gradients de potentiel autour des électrodes. La détermination des cas dans lesquels ce phénomène pourrait être non négligeable, et sa quantification le cas échéant, sont donc des problèmes importants.

Enfin, la construction d'une théorie d'évaluation de la CSD dans l'espace des fréquences possède un avantage majeur par rapport au domaine temporel : la linéarité.

5.3.3 Problèmes ouverts

Les résultats présentés ici semblent soutenir la vision d'un milieu microscopiquement hétérogène et dépendant en fréquence, en conditions physiologiques. Cependant, selon

les types et les systèmes de mesure, ces propriétés peuvent être plus ou moins visibles. Cette tentative de résolution des contradictions de la littérature est encore incomplète. Il est important d'en ébaucher une critique, et d'envisager les développements à venir.

Critique des méthodes et concepts développés

Paramètres restant à explorer. De nombreuses expériences pourraient aider à généraliser ou limiter la portée des outils développés précédemment. Tous ne peuvent être envisagés simultanément, mais l'influence de certains paramètres doit être testée plus avant :

- Les résultats *in vivo* sont similaires aux résultats obtenus *in vitro* pour l'impédance naturelle. Toutefois, des différences doivent être expliquées, notamment la pente du module un peu plus faible (-0.4 ± 0.1 contre -0.5 ± 0.1) et une phase un peu plus élevée au-delà de 300 Hz *in vivo*. Parmi les explications possibles de ces phénomènes :
 - L'activité bien plus importante *in vivo*. Par exemple, les neurones de la couche V subissent un bombardement important depuis la couche III [37] ; cette activité est susceptible de modifier la résistivité locale [23] - et donc l'impédance. FRITZ et GARDNER-MEDWIN [9] proposent d'expliquer cet effet par une accumulation de potassium dans l'espace extracellulaire, modifiant sa conductivité et sa taille (voire favorisant la diffusion ionique locale).
 - La résistivité mesurée est environ 30% plus importante *in vitro*, qu'*in vivo* [23]. Une explication proposée est le possible gonflement des cellules lorsque la tranche baigne dans l'ACSF, qui réduirait l'espace extracellulaire et générerait la circulation des courants [32]. Cependant, le module de l'impédance naturelle est plus fort *in vivo* qu'*in vitro* ($121 \pm 12 \text{ M}\Omega$ contre $180 \pm 16 \text{ M}\Omega$, l'incertitude étant l'erreur standard de la moyenne). Cette contradiction devra être résolue par des mesures supplémentaires.
- Les cellules enregistrées ici appartiennent à la couche V du cortex (Souris ou Rat). L'impédance naturelle a été mesurée dans le striatum, ce qui donne des résultats très similaires. Cependant, la diversité des tissus cérébraux requiert de ne généraliser les résultats obtenus dans le cortex de rongeurs qu'avec prudence, et avec l'appui de nouvelles mesures.
- De même, les résultats concernent uniquement des cellules pyramidales. Celles-ci ont été choisies pour leur asymétrie importante, générant potentiellement de forts LFP ; la fonction de transfert de cellules plus sphériques est probablement différente, par exemple son amplitude pourrait être moindre. En revanche, l'impédance naturelle ne semble pas dépendre significativement de l'arbre dendritique (du fait de la forte impédance de sortie des dendrites). De plus, bien qu'une investigation systématique soit nécessaire, l'impédance en $1/\sqrt{\omega}$ semble dépendre d'un phénomène robuste. Dans des expériences préliminaires, les résultats sont remarquablement similaires pour des enregistrements courts ou très longs, dans des conditions osmotiques modifiées, pour des températures aussi basses que 25 °C, chez des Souris âgées de 14 jours ou des rats âgés d'un mois, etc.
- Le rôle de certaines compensations usuelles (capacitance de la pipette, pont, normalisations par rapport à une solution saline, etc) devra être examiné avec une attention particulière. En effet, ces compensations ont pour objectif de corriger certains artefacts du système de mesure, afin d'obtenir des mesures « non biaisées ». Le

risque majeur de cette approche est de masquer des propriétés intrinsèques du système mesuré - par exemple une éventuelle capacitance - en cherchant à rejoindre les résultats prévus par le paradigme en vigueur. Ainsi, des propriétés importantes du système mesuré peuvent être négligées ou considérées à tort comme résultant d'un artefact de mesure.

- Les couches de Debye sont immédiatement adjacentes à la cellule (quelques nanomètres d'épaisseur) ; dans un tissu entier, il est délicat voire impossible de distinguer leur influence de celle du tissu environnant. La mesure de l'impédance vue par des neurones dissociés, baignant dans l'[ACSF](#) mais toujours entourés de couches de Debye, pourrait livrer de précieuses informations sur leur rôle.

Ajustement et approfondissement du modèle. Après renormalisation, l'inhomogénéité microscopique de σ et ϵ est exprimée par leur dépendance en fréquence. Ces paramètres renormalisés sont alors considérés homogènes dans le milieu. Or, LÓPEZ-AGUADO et collab. [23] avancent que la couche pyramidale a une forte résistivité (env. $6.4 \Omega \text{ m}$ contre env. $2.7 \Omega \text{ m}$ pour les autres couches), ce qui influence fortement la formation des LFP. Les modèles de LFP et de CSD pourront être affinés en tenant compte des variations macroscopiques de σ et ϵ . Le paramètre le mieux connu dans la littérature est la résistivité, définie par $\rho = 1/\sigma(\omega = 0)$; les variations spatiales de σ et ϵ pour des fréquences variées restent à mesurer.

Une autre limitation importante des modèles développés ici est leur domaine de validité - le régime subliminaire. Bien que les potentiels d'action soient une contribution mineure aux LFP, la compréhension de leur propagation dans le milieu extracellulaire est cruciale pour l'identification des types cellulaires et la distinction des sources (« spike sorting »). Une méthode de calcul en régime non-linéaire est en cours de développement dans le laboratoire. Expérimentalement, il serait intéressant de quantifier l'erreur faite par le modèle linéaire de prédiction des LFP, en fonction de la fréquence de décharge.

Enfin, les modèles de prévision des LFP et de la CSD restent soumis aux difficultés classiques : méconnaissance de la géométrie exacte du milieu (morphologie cellulaire, orientation...), et des conditions aux limites le cas échéant. L'information sur les potentiels extracellulaires reste très partielle (nombre limité d'électrodes) et ambiguë : les activités de deux sources de signe opposé peuvent s'annuler en certains points. Enfin, la contribution de nombreuses sources différentes, rarement toutes synchronisées et dont l'effet s'atténue spatialement reste une difficulté majeure [21, 29].

Perspectives

Les travaux présentés ici proposent un mécanisme simple et plausible, expliquant les propriétés de dépendance en fréquence du tissu cérébral. Si la diffusion ionique est un bon candidat, la démonstration de son implication est encore loin d'être prouvée. La relation d'Einstein-Schmoluchowski permet de lister les leviers expérimentaux élémentaires permettant de jouer sur le coefficient de diffusion D d'une espèce chargée [20] :

$$D = \frac{\mu k_B T}{q}$$

où μ est la mobilité d'une particule ionique de charge q , k_B est la constante de Boltzmann et T est la température absolue. Les principales grandeurs accessibles à l'expérimenta-

teur sont les concentrations ioniques et la température ; or ces deux variables doivent être maintenues dans des bornes étroites, sous peine de destruction du tissu - ou de mesures très éloignées de la physiologie. De plus, s'il est possible d'évaluer la diffusion ionique (par exemple par iontophorèse), l'échelle à laquelle ce phénomène agit dans le tissu cérébral pourrait être nanométrique et donc inférieure au pouvoir de résolution des méthodes traditionnelles.

Une mesure d'impédance naturelle dans des cellules dissociées pourrait donner quelques indications sur l'importance des obstacles extracellulaires, en supprimant la tortuosité du milieu environnant sans (trop) affecter les couches de Debye. Néanmoins, cette mesure se ferait dans des conditions très peu naturelles et donc serait insuffisante pour conclure. Pour l'instant, le moyen de vérifier la plausibilité de ce phénomène de diffusion est de tester les prédictions de la théorie du câble généralisé développée dans le laboratoire. Par exemple, cette théorie prévoit des résonances entre 5 et 40 Hz dans un milieu diffusif. Ces fréquences correspondent aux rythmes de basses fréquences observés *in vivo* (alpha, bêta, gamma, thêta : voir BUZSAKI [5]). L'existence et la signification de ces résonances pourraient être testées en soumettant les neurones à des stimulations sinusoïdales ; si ces résonances existent, la réponse du neurone devrait être particulièrement importante dans ces bandes de fréquence. Cet effet devrait être conservé même en cas de blocage pharmacologique des canaux voltage-dépendants, qui interviennent dans d'autres types de résonance (voir chapitre 1). De plus, la fréquence d'une éventuelle résonance de ce type est liée à la constante de temps de la membrane plasmique, mesurable indépendamment [4], ce qui permettrait de mettre en évidence directement son lien avec les propriétés de câble du neurone. Ceci est *compatible* avec le rôle de la diffusion ionique, sans pour autant la mettre en évidence directement. On remarquera toutefois l'adéquation entre résultats expérimentaux et prédictions de la littérature théorique concernant les impédances diffusives (voir 2.3.4).

La polarisation est l'autre mécanisme couramment avancé pour expliquer la dépendance en fréquence du milieu. Toutefois, ce phénomène ne semble pas nécessaire pour expliquer les résultats obtenus entre 10 et 1000 Hz. Ceci a été justifié au chapitre 1 par le tableau 1.2, montrant que la polarisation (terme en $\omega\epsilon$) était négligeable devant la conductivité σ dans l'expression de l'impédance tissulaire dans cette bande de fréquences. Toutefois, les données de GABRIEL et collab. [12] ou encore WAGNER et collab. [38] peuvent être raisonnablement extrapolées en-dessous de 10 Hz ; dans ce domaine, la polarisation pourrait prédominer dans l'expression de l'impédance tissulaire.

Bien que les mécanismes impliqués restent incertains, la forme de l'impédance mesurée pourrait contribuer à la structure en $1/f$ observée lors de certaines mesures de LFP (pour mémoire, voir 1.1) et dont l'origine est toujours débattue. En effet, une activité également répartie entre les fréquences et filtrée par une impédance en $1/\sqrt{f}$ donnerait une DSP des LFP en $1/\sqrt{f^2} = 1/f$.

Cette composition en fréquence des LFP est cruciale pour l'avancée de deux problèmes. Premièrement, les interactions ephaptiques² entre neurones peuvent favoriser la synchronisation de l'activité dans le cortex cérébral. Ceci a été montré théoriquement [14], mais aussi *in vitro* : FRÖHLICH et MCCORMICK [10] ont prouvé que de faibles champs électriques naturels peuvent renforcer et entraîner l'activité de réseau physiologique. Le seuil d'efficacité de ce mécanisme correspond à l'ordre de grandeur des champs endo-

2. L'influence des champs électriques générés par les neurones sur leurs voisins.

gènes *in vivo*. De plus, les variations de potentiel dendritique seraient renforcées dans un milieu de forte impédance (voir ci-dessus), ce qui favoriserait ces interactions ephaptiques. Deuxièmement, si la séparation des fréquences est une propriété précieuse pour l'analyse du spectre des LFP, il est important de considérer ce spectre « en entier ». L'activité biologique des neurones étant corrélée entre bandes de fréquence, cette approche est bien plus informative sur l'activité alentour que des études séparées dans quelques bandes de fréquence étroites [7].

Enfin, un autre résultat intéressant est la proximité entre le module de l'impédance de Warburg mesurée ($|Z_W|$) et le module de l'impédance de la membrane plasmique ($|Z_m|$). Aux basses fréquences, le rapport de ces modules est proche de 1 : $1,00 \pm 0,02$ (l'incertitude étant donnée par l'erreur standard de la moyenne). Si la précision de cet ajustement est relative, avec un écart-type de 0.63 (voir figure 5.2.2), il est légitime de vérifier s'il s'agit d'une coïncidence, ou si cette correspondance a une signification fonctionnelle.

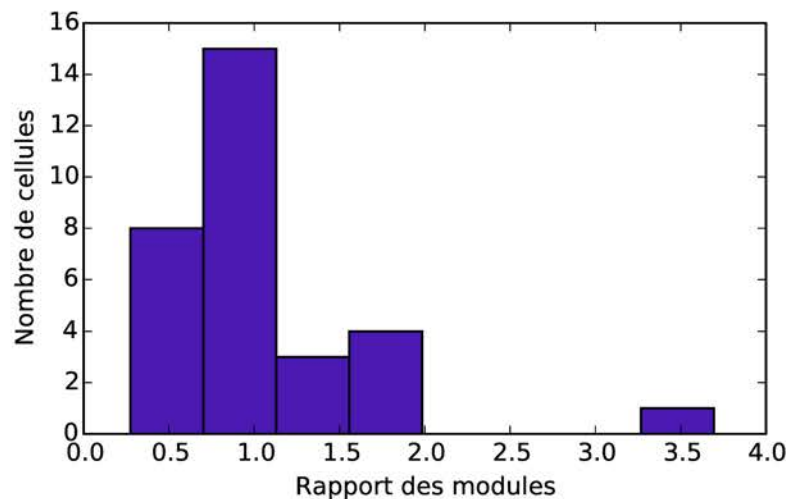


FIGURE 5.3.1 – Rapport entre les modules des impédances de Warburg et de la membrane plasmique, à 1 Hz, pour $N = 31$ cellules pyramidales de Souris enregistrées *in vitro*. En abscisses : $|Z_W|/|Z_m|$ (sans dimension) ; en ordonnées, nombre de cellules.

Défis à venir pour la méthode scientifique

L'exposé présenté ici participe à la construction d'un paradigme récent, développé continûment depuis une dizaine d'années. En sus des tâches purement expérimentales et théoriques à accomplir, des progrès doivent se poursuivre dans les domaines suivants.

Approfondir et enrichir la littérature. Une proportion importante des articles cités dans les chapitres précédents a été développée dans les dix dernières années, et un très faible nombre d'auteurs en est à l'origine. Malgré un regain d'intérêt récent, les LFP demeurent le parent pauvre de l'électrophysiologie vis-à-vis des enregistrements intracellulaires [19]. De plus, les articles publiés avant les années 2000 proposent dans leur grande majorité des modèles phénoménologiques, ou des recettes empiriques décrivant approximative-

ment les données. L'effort réalisé depuis consiste à revenir aux principes fondateurs de la physique pour prédire et expliquer l'origine des LFP.

Rapprocher encore expérimentation et théorie, biologistes et physiciens. La pauvreté et la paucité de la littérature dans ce domaine s'explique en partie par leur séparation encore trop marquée. En dépit de l'existence de journaux de biophysique, la grande majorité des scientifiques possède une formation de base en physique *ou* en biologie. Les « physiciens » se limitent encore trop souvent à la modélisation seule, méconnaissant les conditions exactes de la production de données et concevant rarement eux-mêmes directement les expériences. Les « biologistes » se cantonnent souvent à expérimenter, seulement munis d'un modèle phénoménologique ; parfois, une formation moins avancée en physique nuit à la profondeur de leur compréhension de la théorie. Or, l'expérience et la théorie ne peuvent se concevoir l'une sans l'autre. Bien que cette vision dichotomique soit très caricaturale, elle met en évidence un obstacle récurrent au progrès des neurosciences. Les travaux présentés ici n'ont pu être réalisés que grâce à la collaboration très étroite d'experts de l'électromagnétisme et de l'électrophysiologie. L'auteur de cette thèse s'est efforcé, dans la mesure du possible, de maîtriser la conception, la réalisation, l'analyse et l'interprétation physique des expériences, afin d'être le « non-spécialiste » à l'interface entre les indispensables spécialistes.

Comparer les paradigmes. Il est nécessaire de délimiter le domaine de validité du paradigme développé, et clarifier les relations qu'il entretient avec le précédent : généralisation, rupture, remplacement partiel ou complet... Cet examen doit se faire sans *a priori* en faveur ou en défaveur d'une théorie, sous peine de commettre deux erreurs classiques en science. La première est l'excès de conservatisme, reproche généralement adressé aux comités de relecture des articles, jugés peu enclins à accepter une nouvelle théorie par des auteurs enthousiastes et persuadés de détenir une vérité neuve. En réalité, les résultats donnés par le modèle diffusif ont parfois été évalués à l'aune des arguments du cadre résistif ; cette erreur a été commise par les concepteurs du modèle diffusif eux-mêmes ! En effet, la principale difficulté pour développer et comprendre un nouveau paradigme n'est pas toujours la complexité des équations ou des expériences. L'enjeu majeur est la formation de représentations mentales appropriées et cohérentes, qui ne sont qu'ébauchées lors de l'élaboration d'un nouveau paradigme. La deuxième erreur classique, qui survient fréquemment dans le quotidien du laboratoire, est l'enthousiasme prématuré. Une conséquence fréquente de cette erreur est la généralisation téméraire des conclusions des expériences, et leur interprétation trop poussée. Afin d'éviter ce travers, le chapitre 4 commence à délimiter le domaine de validité et de pertinence du concept d'impédance naturelle.

La construction de ce paradigme soulève nécessairement des critiques, ce qui ouvre un espace de recherche prometteur. Sa capacité prédictive, et sa propension à fournir des problèmes intéressants sont deux qualités très précieuses en sciences, qui permettent de s'investir dans son développement futur avec confiance.

Une meilleure compréhension physique des LFP devrait permettre de mieux comprendre le fonctionnement des neurones individuels mais aussi des aires cérébrales [18]. À terme, elle pourrait permettre le développement de prothèses robotiques commandées par l'activité cérébrale [1], ainsi que des avancées significatives en médecine en appro-

fondissant les connaissances accumulées sur les EEG.

5.4 Références

- [1] ANDERSEN, R. A., S. MUSALLAM et B. PESARAN. 2004, «Selecting the signals for a brain-machine interface», *Current opinion in neurobiology*, vol. 14, n° 6, p. 720–726.
- [2] BAL, T., A. FOUST, A. CASALE et D. MCCORMICK. 2012, «Dendritic processing in the gabaergic neurons of the thalamic reticular nucleus», Soc. Neurosc. Abstract, New Orleans.
- [3] BÉDARD, C. et A. DESTEXHE. 2009, «Macroscopic models of local field potentials and the apparent 1/f noise in brain activity», *Biophysical journal*, vol. 96, n° 7, p. 2589–2603.
- [4] BÉDARD, C. et A. DESTEXHE. 2013, «Generalized cable theory for neurons in complex and heterogeneous media», *Physical Review E*, vol. 88, n° 2, p. 022 709.
- [5] BUZSAKI, G. 2006, *Rhythms of the Brain*, Oxford University Press.
- [6] DURAND, D. 1984, «The somatic shunt cable model for neurons.», *Biophysical journal*, vol. 46, n° 5, p. 645.
- [7] FERNÁNDEZ-RUIZ, A. et O. HERRERAS. 2013, «Identifying the synaptic origin of ongoing neuronal oscillations through spatial discrimination of electric fields», *Frontiers in computational neuroscience*, vol. 7.
- [8] FREYGANG, W. et K. FRANK. 1959, «Extracellular potentials from single spinal motoneurons», *The Journal of general physiology*, vol. 42, n° 4, p. 749–760.
- [9] FRITZ, L. et A. GARDNER-MEDWIN. 1976, «The effect of synaptic activation on the extracellular potassium concentration in the hippocampal dentate area, in vitro», *Brain research*, vol. 112, n° 1, p. 183–187.
- [10] FRÖHLICH, F. et D. A. MCCORMICK. 2010, «Endogenous electric fields may guide neocortical network activity», *Neuron*, vol. 67, n° 1, p. 129–143.
- [11] GABRIEL, C., S. GABRIEL et E. CORTHOUT. 1996, «The dielectric properties of biological tissues : I. literature survey», *Physics in medicine and biology*, vol. 41, n° 11, p. 2231.
- [12] GABRIEL, S., R. LAU et C. GABRIEL. 1996, «The dielectric properties of biological tissues : Ill. measurements in the frequency range 10 hz to 20 ghz», *Physics in medicine and biology*, vol. 41, n° 11, p. 2251.
- [13] GEDDES, L. 1997, «Historical evolution of circuit models for the electrode-electrolyte interface», *Annals of biomedical engineering*, vol. 25, n° 1, p. 1–14.
- [14] HOLT, G. R. et C. KOCH. 1999, «Electrical interactions via the extracellular potential near cell bodies», *Journal of computational neuroscience*, vol. 6, n° 2, p. 169–184.
- [15] HUBBARD, J. I., R. R. LLINÁS et D. M. QUASTEL. 1969, *Electrophysiological analysis of synaptic transmission*, 19, Williams & Wilkins Company.
- [16] JACKSON, M. B. 1992, «Cable analysis with the whole-cell patch clamp. theory and experiment», *Biophysical journal*, vol. 61, n° 3, p. 756–766.

- [17] JACOBSON, S. et D. A. POLLEN. 1968, «Electrotonic spread of dendritic potentials in feline pyramidal cells», *Science*, vol. 161, n° 3848, p. 1351–1353.
- [18] KATZNER, S., I. NAUHAUS, A. BENUCCI, V. BONIN, D. L. RINGACH et M. CARANDINI. 2009, «Local Origin of Field Potentials in Visual Cortex», *Neuron*, vol. 61, n° 1, p. 35–41, ISSN 08966273.
- [19] KOCH, C. 1998, *Biophysics of computation : information processing in single neurons*, Oxford university press.
- [20] KUBO, R. 1966, «The fluctuation-dissipation theorem», *Reports on progress in physics*, vol. 29, n° 1, p. 255.
- [21] LLINÁS, R. et C. NICHOLSON. 1974, «Analysis of field potentials in the central nervous system», *Handbook of electroencephalography and clinical neurophysiology*, vol. 2, n° Part B, p. 61–85.
- [22] LOGOTHETIS, N. K., C. KAYSER et A. OELTERMANN. 2007, «In vivo measurement of cortical impedance spectrum in monkeys : implications for signal propagation», *Neuron*, vol. 55, n° 5, p. 809–823.
- [23] LÓPEZ-AGUADO, L., J. IBARZ et O. HERRERAS. 2001, «Activity-dependent changes of tissue resistivity in the cal region in vivo are layer-specific : modulation of evoked potentials», *Neuroscience*, vol. 108, n° 2, p. 249–262.
- [24] MITZDORF, U. 1985, «Current source-density method and application in cat cerebral cortex : investigation of evoked potentials and eeg phenomena», *Physiological reviews*, vol. 65, n° 1, p. 37–100.
- [25] NELSON, M. J., C. BOSCH, L. VENANCE et P. POUGET. 2013, «Microscale inhomogeneity of brain tissue distorts electrical signal propagation», *The Journal of Neuroscience*, vol. 33, n° 7, p. 2821–2827.
- [26] NICHOLSON, C. et E. SYKOVÁ. 1998, «Extracellular space structure revealed by diffusion analysis», *Trends in neurosciences*, vol. 21, n° 5, p. 207–215.
- [27] NICHOLSON, P. W. 1965, «Specific impedance of cerebral white matter», *Experimental neurology*, vol. 13, n° 4, p. 386–401.
- [28] LORENTE DE NÓ, R. 1947, «A study of nerve physiology.», *Studies from the Rockefeller institute for medical research. Reprints. Rockefeller Institute for Medical Research*, vol. 131, p. 1.
- [29] NUNEZ, P. L. et R. SRINIVASAN. 2006, *Electric fields of the brain : the neurophysics of EEG*, Oxford university press, 3 p..
- [30] PETTERSEN, K. H., A. DEVOR, I. ULBERT, A. M. DALE et G. T. EINEVOLL. 2006, «Current-source density estimation based on inversion of electrostatic forward solution : effects of finite extent of neuronal activity and conductivity discontinuities», *Journal of neuroscience methods*, vol. 154, n° 1, p. 116–133.
- [31] RALL, W. 1962, «Electrophysiology of a dendritic neuron model», *Biophysical journal*, vol. 2, n° 2 Pt 2, p. 145.

- [32] RICE, M. E. et C. NICHOLSON. 1991, «Diffusion characteristics and extracellular volume fraction during normoxia and hypoxia in slices of rat neostriatum», *Journal of neurophysiology*, vol. 65, n° 2, p. 264–272.
- [33] ROBINSON, D. A. 1968, «The electrical properties of metal microelectrodes», *Proceedings of the IEEE*, vol. 56, n° 6, p. 1065–1071.
- [34] SCHWAN, H. 1968, «Electrode polarization impedance and measurements in biological materials*», *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 148, n° 1, p. 191–209.
- [35] SYKOVÁ, E. et C. NICHOLSON. 2008, «Diffusion in brain extracellular space», *Physiological reviews*, vol. 88, n° 4, p. 1277–1340.
- [36] TERZUOLO, C. A. et T. ARAKI. 1961, «An analysis of intra-versus extracellular potential changes associated with activity of single spinal motoneurons*», *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 94, n° 2, p. 547–558.
- [37] THOMSON, A. M. et C. LAMY. 2007, «Functional maps of neocortical local circuitry», *Frontiers in neuroscience*, vol. 1, n° 1, p. 19.
- [38] WAGNER, T., U. EDEN, J. RUSHMORE, C. J. RUSSO, L. DIPIETRO, F. FREGNI, S. SIMON, S. ROTMAN, N. B. PITSKEL, C. RAMOS-ESTEBANEZ et collab.. 2014, «Impact of brain tissue filtering on neurostimulation fields : A modeling study», *Neuroimage*, vol. 85, p. 1048–1057.

Annexe A

Annexes

*« L'homme fait son outil, après quoi
c'est l'outil qui fait l'homme. »*

Henri Vincenot

Sommaire

A.1 Analyse vectorielle	II
A.2 Ajustement de modèles non linéaires par une méthode de Monte-Carlo	III
A.2.1 Principe	III
A.2.2 Mise en œuvre avec Python	VI
A.2.3 Utilisation courante et options	X
A.2.4 Améliorations futures	X

A.1 Analyse vectorielle

La formulation actuelle des équations de Maxwell nécessite l'utilisation de conventions d'écriture pour trois opérateurs différentiels linéaires classiques : le gradient, la divergence et le rotationnel. Il est également utile de définir le laplacien, défini comme la divergence du gradient d'un champ scalaire.

Les définitions sont données ici en coordonnées cartésiennes, dans le repère orthonormé de base $(\vec{u}_x, \vec{u}_y, \vec{u}_z)$.

Définition. Le **gradient** est un opérateur différentiel, qui à un champ de scalaires S associe un champ de vecteurs \vec{T} noté $\vec{\nabla}S = \vec{T}$ représentant le taux de variation de S dans l'espace. En d'autres termes, si S est un relevé topographique, \vec{T} quantifie le dénivelé local et donne son orientation.

$$\vec{T} = \vec{\nabla}S = \frac{\partial S}{\partial x} \vec{u}_x + \frac{\partial S}{\partial y} \vec{u}_y + \frac{\partial S}{\partial z} \vec{u}_z$$

Définition. La **divergence** est un opérateur différentiel, qui à un champ de vecteurs \vec{T} associe un champ de scalaires noté $\vec{\nabla} \cdot \vec{T}$, où "." symbolise le produit scalaire. La divergence de \vec{T} représente le flux de \vec{T} sortant d'un volume infinitésimal en tout point de l'espace. En coordonnées cartésiennes, où T_x , T_y et T_z sont les composantes de \vec{T} selon chaque axe de l'espace :

$$(\vec{\nabla} \cdot \vec{T})(x, y, z) = \frac{\partial T_x}{\partial x} + \frac{\partial T_y}{\partial y} + \frac{\partial T_z}{\partial z}$$

En physique, la divergence est très utilisée dans les lois de conservation locale. Par exemple, si \vec{j} est la densité de courant dans un conducteur, la divergence de \vec{j} mesure la variation de la répartition des charges ρ dans un volume élémentaire : $\vec{\nabla} \cdot \vec{j} = -\frac{\partial \rho}{\partial t}$.

Définition. Le **rotationnel** est un opérateur différentiel, qui à un champ de vecteurs \vec{T} dans un espace à trois dimensions associe un autre champ de vecteurs noté $\vec{\nabla} \wedge \vec{T}$, où " \wedge " symbolise le produit vectoriel.

$$\vec{\nabla} \wedge \vec{T} = \left(\frac{\partial T_z}{\partial y} - \frac{\partial T_y}{\partial z} \right) \vec{u}_x + \left(\frac{\partial T_x}{\partial z} - \frac{\partial T_z}{\partial x} \right) \vec{u}_y + \left(\frac{\partial T_y}{\partial x} - \frac{\partial T_x}{\partial y} \right) \vec{u}_z$$

Soit \vec{T} , un champ de vecteurs représentant en tout point de l'espace l'intensité d'un courant d'eau. Le rotationnel de \vec{T} en un point représente la capacité à faire tourner un petit objet placé en ce point. Attention ! Un champ de rotationnel non nul n'est pas nécessairement composé de vecteurs qui ont tendance à "tourner autour d'un point". Par exemple, le champ de vitesses d'un fluide newtonien circulant dans un tuyau de rayon R

et d'axe \vec{u}_z peut être décrit comme $\vec{v}(r, z) = (R - r)^2 \cdot \vec{u}_z$. Calculons la composante en \vec{u}_x du rotationnel de \vec{v} (avec $r = \sqrt{x^2 + y^2}$) :

$$\frac{\partial v_z}{\partial y} - \frac{\partial v_y}{\partial z} = 2y \left(1 + \frac{1}{\sqrt{x^2 + y^2}} \right) \neq 0$$

Tous les vecteurs du champ \vec{v} sont orientés selon \vec{u}_z (ils n'ont pas "tendance à tourner autour d'un point"), et pourtant le rotationnel de ce champ est non nul. En revanche, si un objet est pris dans le courant et situé entre les rayons r_1 et r_2 , on imagine aisément comment la différence de vitesse du courant entre r_1 et r_2 peut le faire pivoter.

Remarque : par définition, quel que soit le champ de vecteurs \vec{T} , la divergence du rotationnel est nulle : $\vec{\nabla} \cdot (\vec{\nabla} \wedge \vec{T}) = 0$.

Définition. Le **laplacien** est un opérateur différentiel noté $\vec{\nabla}^2$ ou Δ , qui à un champ scalaire S associe la divergence du gradient de ce champ, ce qui correspond à la somme des dérivées secondes de ce champ par rapport à x , y et z .

$$\vec{\nabla}^2 S = \Delta S = \frac{\partial^2 S_x}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 S_y}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 S_z}{\partial z^2}$$

Le laplacien d'une fonction peut être vu comme la *courbure moyenne locale* de cette fonction, ce qui rend cet opérateur très utile en physique, notamment dans l'analyse de propagation d'ondes (chaleur, ondes mécaniques ou électromagnétiques), et dans l'analyse des potentiels (gravifique, électrique).

A.2 Ajustement de modèles non linéaires par une méthode de Monte-Carlo

A.2.1 Principe

Ajuster des paramètres à un modèle

Afin de confronter théorie et expériences, il est d'usage d'évaluer la qualité des prédictions d'un ou plusieurs modèles vis-à-vis des données expérimentales. Pour une variable X prenant N valeurs x_i , on obtient une série de mesures de la forme $y_{obs}(x_i)$. Un modèle est une fonction de cette variable X et de plusieurs paramètres : $y_{th}(x_i) = M(x_i; p_1, p_2, \dots, p_n)$, donnant une prédiction théorique Y_{th} des valeurs observées en fonction des x_i choisis. Si le nombre de paramètres du modèle est trop faible, il risque de ne pouvoir décrire correctement la complexité des données expérimentales. En revanche, d'après le théorème de l'unisolvance, il est toujours possible de trouver un polynôme P de degré $N - 1$ tel que $P(x_i) = y_{obs}(x_i)$ pour tout i , ce qui annule l'erreur ; un modèle possédant trop de paramètres n'a donc pas d'intérêt car il est *ad hoc* et dépourvu de sens physique.

Effectuer un ajustement (souvent désigné par l'anglicisme « fit ») consiste alors à trouver les paramètres qui minimisent l'erreur E commise par le modèle. La méthode des moindres carrés donne l'expression de l'erreur pour un vecteur de paramètres donné :

$$E = \sum_i (y_{obs}(x_i) - y_{th}(x_i))^2 \quad (A.2.1)$$

$$E(P) = \sum_i (y_{obs}(x_i) - M(x_i; P))^2 \quad (A.2.2)$$

On considère que le vecteur P_{min} qui minimise cette fonction représente la valeur la plus vraisemblable prise par les paramètres, pour un modèle donné.

La minimisation de l'expression de l'erreur est la principale difficulté des ajustements ; souvent, les seules méthodes connues sont des heuristiques. Le calcul s'alourdit rapidement avec le nombre de points N (souvent élevé ici afin d'avoir un signal bien connu), et l'espace des paramètres peut devenir gigantesque pour n élevé. Empiriquement, la plupart des routines d'ajustement (ou « fit ») généralistes deviennent inefficace à partir de quatre ou cinq paramètres. En effet, il s'agit de minimiser une fonction de n paramètres, c'est-à-dire trouver le minimum global parmi les différents « puits » d'une surface à n dimensions. La difficulté majeure de ce problème d'optimisation est la tendance des algorithmes itératifs à converger vers des minimums locaux, et leur sensibilité à la première estimation des paramètres P_0 fournie par l'utilisateur. Une exploration « exhaustive » de l'espace des paramètres est parfois inévitable, ce qui pose deux principales difficultés :

- définir un intervalle de valeurs admissibles pour chaque paramètre.
- choisir la finesse de l'exploration : pour un modèle à n paramètres ayant chacun dix valeurs possibles, il faut calculer et comparer l'erreur de 10^n paramètres ! Une exploration trop grossière peut passer à côté du minimum global, mais l'exhaustivité a un coût exponentiel.

Le rôle du scientifique est alors de choisir un intervalle qui ne soit pas trop large (sauf à considérer admissible une dendrite équivalente aussi longue que le trajet d'Apollo 11), sans être trop restreint par les préjugés sur les « résultats attendus ». Il est impossible de formuler une théorie scientifique sans des *a priori* fondés sur des connaissances empiriques ; mais à trop restreindre de ce qu'on attend d'une expérience, on risque de passer à côté d'un phénomène inattendu et d'une interprétation nouvelle. Cet équilibre délicat ne peut être automatisé ; un jugement humain expérimenté dans le domaine, quoique sujet à l'erreur, reste indispensable.

Un exemple concret

Ici, on développe un exemple tiré du chapitre 2 : on a une série de $Z_{obs}(f_i)$ où Z_{obs} est l'impédance observée et f_i est la fréquence. Un des modèles développés donne $Z_{th}(f) = \frac{R_m}{1+2\pi i R_m C_m} + \frac{A+iB}{1+\sqrt{f/f_W}}$ et servira d'illustration ici.

Afin d'évaluer ce modèle (entre autres), les algorithmes traditionnels ont été testés : Newton-Gauss, Levenberg-Marquardt, Powell, gradient conjugué, méthode du simplexe et autres, grâce aux routines incluses dans le package Scipy¹. Toutefois, à partir de quatre paramètres au plus, ces algorithmes se sont révélés souvent impraticables en temps de calcul

1. Voir la documentation sur `scipy.optimize` <http://docs.scipy.org/doc/scipy/reference/optimize.html>.

(du fait de n et N élevés), et presque toujours inefficaces pour trouver le minimum global de la fonction E . Entre autres inconvénients, ils convergeaient très souvent vers un minimum local, et le résultat était extrêmement sensible à la première estimation des paramètres qui leur était fournie.

Stratégie de Monte-Carlo

La stratégie repose sur la détermination de valeurs numériques pour les paramètres par tirage au sort de vecteurs P et évaluation de leur qualité ; c'est donc une méthode de Monte-Carlo. Bien qu'il existe un module en Python utilisant ce genre de méthodes², sa principale fonction n'est pas l'ajustement d'un modèle à une série de données expérimentales. Il était donc nécessaire de développer un programme adapté pour réaliser les ajustements souhaités.

L'algorithme répète la routine suivante, qui repose sur un « classement des meilleures estimations ». Ce classement est un dictionnaire comprenant, pour chaque vecteur, l'erreur qui lui est associée. À l'itération j :

1. Tirage au sort d'un vecteur $P_j = (R_m, C_m, A, B, f_w)$, chaque paramètre étant tiré dans un intervalle de valeurs physiquement plausibles. Ceci élimine les problèmes de sensibilité à P_0 .
2. Calcul de l'erreur $E_j(P_j)$ commise en choisissant P_j , dans le modèle donné, pour expliquer l'impédance observée.
3. Si E_j est inférieure à la plus grande erreur du classement établi lors des $j - 1$ itérations précédentes, le couple $(P_j, E_j(P_j))$ est intégré au classement et le dernier couple du précédent classement est éliminé. Sinon, P_j est éliminé.

Le nombre d'itérations I est laissé au choix de l'utilisateur, afin d'obtenir des résultats reproductibles (et de trouver efficacement le minimum global) en un temps de calcul raisonnable. Ici, de nombreux modèles ont été comparés pour plusieurs dizaines de cellules différentes ; il fut alors intéressant d'utiliser un I très élevé pour quelques cellules, et de diminuer progressivement ce nombre jusqu'à atteindre un bon compromis entre rapidité et robustesse.

En pratique, on observe que le tirage au sort des paramètres permet de tester leurs combinaisons presque aussi exhaustivement que la force brute et pour un coût remarquablement inférieur. De plus, la méthode de Monte-Carlo permet d'explorer plusieurs minimums locaux, contrairement aux algorithmes itératifs qui ont tendance à converger vers un minimum local qui n'est pas le minimum global.

Le rapport coût/bénéfices de cette stratégie fut, dans l'ensemble, satisfaisant et bien meilleur que celui des routines déjà disponibles. L'intérêt d'exposer cet algorithme ici est double :

- favoriser la reproductibilité des résultats scientifiques et la transparence des méthodes, en permettant leur critique et leur amélioration.

2. <http://pymc-devs.github.io/pymc/>

- partager une stratégie simple, robuste, généraliste, dont aucune mise en œuvre concrète n'est mise à disposition du grand public et de la communauté scientifique à la connaissance de l'auteur.

A.2.2 Mise en œuvre avec Python

```
#!/usr/bin/python
# -*- coding: utf-8 -*-

# Trouver les meilleurs parametres d'un modele d'impedance
# pour approximer l'impedance mesuree dans un neurone cortical
# enregistree en cellule entiere, courant impose

import numpy as np
from matplotlib import pylab as plt

# %% Definition des fonctions

def modele(f, parametres):
    """Renvoie l'impedance vue par le soma d'apres un modele incluant la
    diffusion ionique.
    f (la variable experimentale) est un tableau numpy.
    parametres est une liste. """
    omega = 2 * np.pi * f

    # Parametres connus
    l_s = 20e-6          # Longueur du soma en metres
    r_i = 28e9           # Resistivite interne au soma en ohms/metre

    # Parametres inconnus
    Rm, Cm, A, B, fw = parametres

    Zeq = Rm / (1 + 1j * omega * Rm * Cm) + (A + 1j * B) / \
        (1 + np.sqrt(1j * f / fw)) + r_i * l_s
    return Zeq

def calc_error(Z_mes, Z_model):
    erreur = np.sum((np.real(Z_model) - np.real(Z_mes))**2) + \
        np.sum((np.imag(Z_model) - np.imag(Z_mes))**2)
    return erreur

def explog(a, b):
    """ Exploration logarithmique des valeurs donnees"""
    if a == 0 or b == 0:
```

```
        print('p_min et p_max doivent etre non nuls')
        raise ValueError
r = np.random.rand()
if a > 0:
    param = 10 ** (np.log10(a) + r * np.log10(b / a))
elif b < 0:
    param = - 10 ** (np.log10(-a) + r * np.log10(b / a))
elif (a < 0) & (b > 0):
    # log(0) n'est pas defini. Arbitrairement, on definit :
    # Exploration autour de zero exclue dans [ae-5 ; be-5]
    # A valeurs dans ] a + b * 1e-5 ; b - a * 1e-5 [
    param = - 10 ** (np.log10(- a) - 5 * r) + \
            10 ** (np.log10(b) + 5 * (r - 1))
return param

def montecarlo(x, Y_obs, p_min, p_max, model, iterations, uselog=None):
    """x est la liste des variables,
    Y_mes la grandeur mesuree,
    p_min et p_max les listes des minimums et des maximums pour les variables,
    model est la fonction prenant les parametres en argument
    iterations est le niveau de detail de l'exploration
    uselog prend en argument un tuple contenant les indices des parametres
    Si uselog = (0,5), l'exploration des parametres 0 et 5 sera logarithmique
    p_min et p_max ne peuvent etre nuls en cas d'exploration logarithmique"""

    # Number of parameters
    nbp = len(p_min)
    # params = np.zeros(nbp, float)
    # Dictionnaire donnant les parametres pour chacune des meilleures erreurs
    classement = {(1 + i) * 1e100: [] for i in range(10)}

    p_min = np.array(p_min)
    p_max = np.array(p_max)

    for i in range(nbp):
        if p_min[i] > p_max[i]:
            print('p_min doit etre inferieur a p_max')
            raise ValueError

    for i in range(iterations):
        # Exploration lineaire
        params = p_min + np.random.rand(nbp) * (p_max - p_min)
        # exploration logarithmique
        if uselog is not None:
            for elem in uselog:
                params[elem] = explog(p_min[elem], p_max[elem])
```

```
Y_model = model(freqs, params)
erreur = calc_error(Y_obs, Y_model)

# Si l'erreur entre dans le classement des meilleures erreurs
if np.array([erreur < elem for elem in classement]).any():
    # Supprimer les parametres donnant la moins bonne erreur
    del classement[sorted(classement.keys())[-1]]
    classement[erreur] = params

# Return the best parameters
return np.array([classement[err] for err in sorted(classement.keys())])[0]

# %% IMPORTATION DES DONNEES
# On fabrique une serie de donnees pour l'exemple
freqs = np.linspace(1, 1000, num=10000, dtype=float)
# Parametres realistes correspondant a une cellule corticale
p_0 = [190e6, 95e-12, 54e6, -5e6, 35]
# Donnees presentant un peu de bruit
Z_mes = modele(freqs, p_0)
Z_mes *= (1 + np.random.normal(0, 0.2, size=10000) +
          1j * np.random.normal(0, 0.2, size=10000))

# %% AJUSTEMENT

# iterations est le nombre de vecteurs de parametres tires au hasard
iterations = 1000

# p_min et p_max sont la liste des minimums et maximums
# possibles pour chaque variable

p_min = [60e6, 20e-12, 50e6, -50e6, 1]
p_max = [250e6, 250e-12, 250e6, 50e6, 50]
p_diff = montecarlo(freqs, Z_mes, p_min, p_max, modele, iterations)
fits = modele(freqs, p_diff)

# %% REPRESENTATION

def graphique(x, y, fits, module):
    plt.figure()
    plt.xlim((1, 1000))
    plt.xscale('log')
    plt.xlabel('Frequence (Hz)', labelpad=-0.2)
    if module:
        plt.yscale('log')
        plt.ylabel('Module (Ohms)', labelpad=-0.2)
```



```

else:
    plt.ylim((-90, 90))
    plt.ylabel('Phase (degrees)', labelpad=-0.2)
    plt.plot(x, y, alpha=.6, linewidth=0.5, color='0.3')
    legende = 'Ajustement pour modele diffusif'
    plt.plot(x, fits, '-', color='b', label=legende, linewidth=2)
    if not module:
        plt.legend()
    return 0

# Plot the modulus and phase
graphique(freqs, np.abs(Z_mes), np.abs(fits), True)
graphique(freqs, np.angle(Z_mes, deg=True), np.angle(fits, deg=True), False)

```

L'erreur de l'ajustement diminue avec le nombre d'itérations et atteint rapidement un plancher. La figure A.2.1 illustre ce phénomène.

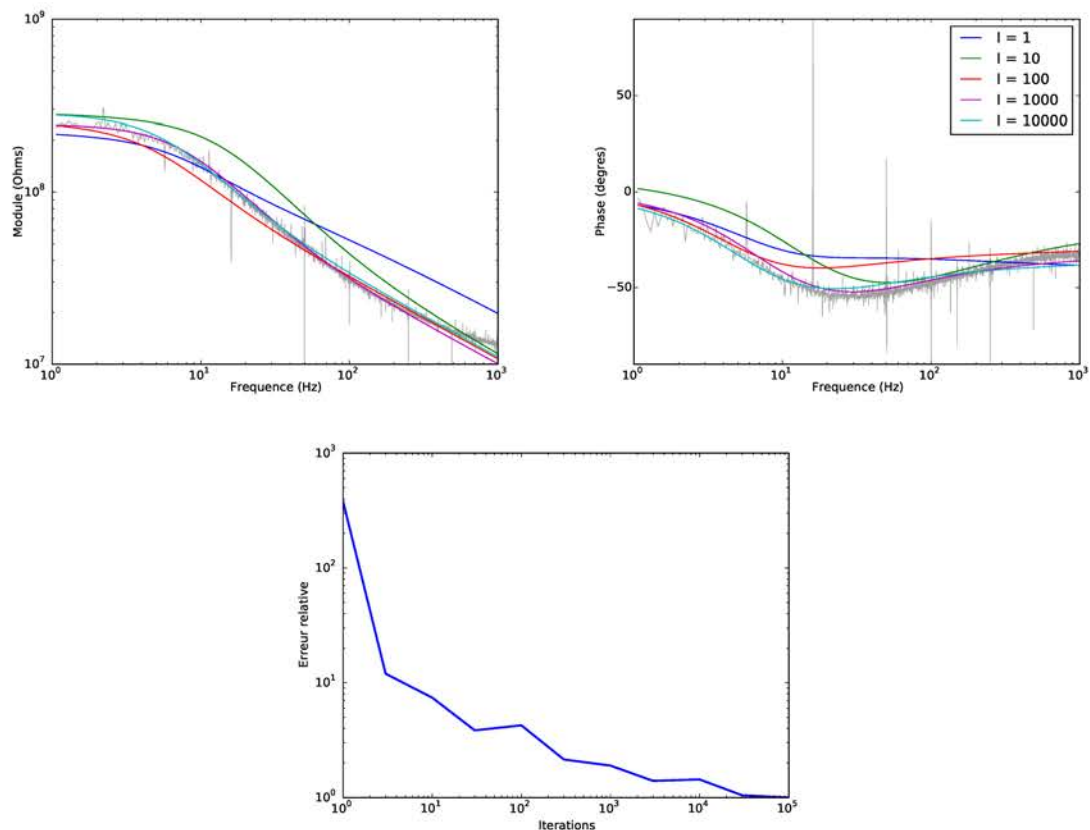


FIGURE A.2.1 – Ajustement par méthode de Monte-Carlo. L'impédance naturelle mesurée par un neurone cortical est approximée à l'aide du programme ci-dessus. **En haut** (module et phase) : meilleure prédiction du modèle pour 1, 10, 100, 1000 et 10 000 itérations. **En bas** : erreur relative associée au meilleur vecteur en fonction du nombre d'itérations.

A.2.3 Utilisation courante et options

Un réflexe courant est de chercher à diminuer le temps de calcul en effectuant un premier balayage rapide, par un nombre d'itérations peu élevé, afin de « dégrossir la tâche ». L'objectif est de restreindre l'espace des paramètres avant une deuxième recherche plus fine (voire une réitération de ce processus). Cela demande de récupérer le classement des meilleurs paramètres après le premier ajustement rapide, et d'explorer autour de ces paramètres. En pratique, cette idée est inefficace car la méthode présentée ici n'est pas itérative et ne converge pas vers une solution. Le premier balayage risque d'être trop grossier et de passer à côté du « puits » du minimum global ; de plus, l'exploration autour d'un paramètre est une notion très subjective, posant plus de problèmes qu'elle n'en résout. Empiriquement, même si le premier balayage est suffisant pour trouver le minimum global, les bénéfices d'un second balayage plus fin autour de ce minimum sont réduits voire nuls.

En pratique, lorsqu'un paramètre peut prendre des valeurs s'étalant sur plusieurs ordres de grandeur, l'utilisation d'une distribution uniforme ne permet pas une exploration optimale. Par exemple, la longueur l_d du cylindre équivalent à l'arbre dendritique n'était pas connue *apriori* ; elle pouvait, en théorie, se situer n'importe où entre $0.1 \mu\text{m}$ et 10 m (moins aurait été négligeable ; une valeur plus grande encore serait très improbable d'un point de vue physiologique).

Si l'on tire aléatoirement cent mille valeurs de l_d en utilisant une distribution uniforme, pour des valeurs extrêmes de 10^{-7} et 10 m , l_d ne prendra des valeurs inférieures au millimètre qu'une dizaine de fois. Or, si la longueur équivalente la plus vraisemblable est de $100 \mu\text{m}$, cet ordre de grandeur ne sera approché par tirage aléatoire que très rarement. De plus, l'influence des autres paramètres sur le calcul de l'erreur conduira à rejeter la majorité de ces vecteurs. Il y a donc très peu de chances que la valeur la plus « vraisemblable » (dans le cadre du modèle) soit sélectionnée.

Afin de gérer cet inconvénient, le mode *uselog* de la fonction montecarlo peut être activé par l'utilisateur pour tout nombre de paramètres (aucun, un seul, tous...). Le tirage au sort des paramètres concernés se fera alors à l'aide d'une distribution également répartie le long des axes de grandeur (logarithmique).

Il est également possible de fixer un ou plusieurs paramètres, en fournissant au programme un intervalle de longueur nulle ($p_{min} = p_{max}$).

A.2.4 Améliorations futures

Le développement de cette méthode reste un élément accessoire du travail présenté ici, et il est évident que le code fourni ci-dessus peut être considérablement généralisé, mais aussi optimisé en termes de complexité algorithmique et de mise en œuvre.

Parmi les améliorations possibles, on peut envisager d'interfacer cette technique avec les méthodes classiques (comme celle de Gauss-Newton) pour leur fournir P_0 , une estimation initiale de la solution. A première vue, cette possibilité est peu utile du fait du

comportement non itératif, tout ou rien, de la méthode de Monte-Carlo : soit le minimum global est déjà déterminé, soit les vecteurs de paramètres appartiennent à divers minimums locaux (dont l'un est peut-être global).

Une solution possible serait d'établir un classement des meilleurs vecteurs assez large (une centaine par exemple) par la méthode de Monte-Carlo, puis de les classer en groupes selon leur distance normalisée. On aurait, dans le cas le plus simple, deux groupes de vecteurs : l'un autour de (100, 20, 0.1, 1000) et l'autre autour de (150, 10, 0.1, 350) par exemple. En faisant l'hypothèse raisonnable qu'un groupe rassemble des vecteurs appartenant au même « puits » autour d'un minimum local, il est alors possible d'initialiser un algorithme itératif avec le meilleur vecteur de chaque groupe.

Cette méthode combinerait les avantages des algorithmes itératifs et la possibilité d'explorer l'espace des paramètres autour de plusieurs « puits » bien déterminés.

Le bénéfice reste toutefois incertain, le regroupement des vecteurs par similarité (« *clustering* ») est un problème d'optimisation dont le coût algorithmique est généralement élevé.

Annexe B

Liste des acronymes

ACSF liquide céphalo-rachidien artificiel –ou *Artificial Cerebro-Spinal Fluid*–. [9](#), [10](#), [34](#), [35](#), [116](#), [117](#), [122](#), [123](#)

CSD densité de sources de courant –ou *Current Source Density*–. [38](#), [115](#), [119–121](#)

DSP densité spectrale de puissance –ou *Power Spectrum Density*. [10](#), [32](#), [37](#), [124](#)

EEG électroencéphalographie. [8](#)

LFP potentiels de champ locaux –ou *Local Field Potentials*–. [8](#)

Annexe C

Glossaire

diélectrique Un matériau diélectrique est un isolant, pouvant être polarisé par l'application d'un champ électrique. Cette polarisation est appelée « réaction » du milieu. [14, 21](#)

MEG MagnétoEncéphaloGraphie - enregistrement du champ magnétique produit par l'activité cérébrale. [31](#)